

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



CRISTINE MIRON STEFANI
CIRURGIÃ DENTISTA

**Avaliação da Influência da Nicotina Sobre o Reparo Ósseo ao
Redor de Implantes de Titânio Com Diferentes Tratamentos de
Superfície Colocados em Tíbias de Coelhos.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba - UNICAMP, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutor em
Clínica Odontológica, Área de Periodontia.

Piracicaba
- 2001 -



UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

2001184747

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
- UNICAMP -

CRISTINE MIRON STEFANI

CIRURGIÁ DENTISTA

**Avaliação da Influência da Nicotina Sobre o Reparo Ósseo ao
Redor de Implantes de Titânio Com Diferentes Tratamentos de
Superfície Colocados em Tíbias de Coelhos.**

**Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba - UNICAMP, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Doutor em
Clínica Odontológica, Área de Periodontia.**

ORIENTADOR: PROF. DR. FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JÚNIOR

BANCA EXAMINADORA:

PROF. DR. ARTHUR BELÉM NOVAES JÚNIOR

PROF. DR. ENILSON ANTONIO SALLUM

PROF. DR. GETÚLIO DA ROCHA NOGUEIRA FILHO

PROF. DR. MARCIO FERNANDO DE MORAES GRISI

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83;

CPG 17.08/01

Assinatura do Orientador

Piracicaba

- 2001 -

Ficha Catalográfica

St32a Stefani, Cristine Miron.
Avaliação da influência da nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio com diferentes tratamentos de superfície colocados em tíbias de coelhos. / Cristine Miron Stefani. – Piracicaba, SP : [s.n.], 2001.
xi, 66f. : il.

Orientador : Prof. Dr. Francisco Humberto Nociti Júnior.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Implantes dentários endoósseos. 2. Ossos – Regeneração. I. Nociti Júnior, Francisco Humberto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8–6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 05 de Julho de 2001, considerou o candidato ALESSANDRO LOURENÇO JANUARIO aprovado.

1. Prof. Dr. FRANCISCO HUMBERTO NOCITI JR.

2. Prof. Dr. JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPAIO

3. Prof. Dr. FERNANDO RENÓ DE LIMA

4. Prof. Dr. SERGIO DE TOLEDO

5. Prof. Dr. ENILSON ANTONIO SALLUM

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

A todos aqueles que mais amo no mundo, que
nos momentos difíceis estavam presentes, com
a palavra certa e o amor incondicional:

Meus pais, **Nanci** e **Valter** (*in memoriam*), meus
irmãos, **Fabiane** e **Valter** e meu companheiro,
Adriano.

Obrigada pelo carinho, compreensão e paciência.

Amo vocês.



AGR DECIMENTOS

A **Deus**, Criador e Senhor de todas as coisas.

Agradecimentos Especiais

Ao Prof. Dr. **Francisco Humberto Nociti Júnior**, Professor Associado da Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pela amizade e firme orientação na formação científica e na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Antonio Wilson Sallum**, Titular da Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pelo exemplo de vida e pelo voto de confiança ao me aceitar como aluna de pós graduação.

Ao Prof. Dr. **Sérgio de Toledo**, Titular da Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pelo carinho e exemplo de dedicação e bom humor.

Ao Prof. Dr. **Enilson Antonio Sallum**, Professor Associado da Área de Periodontia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, pela amizade, confiança, incentivo e exemplo.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), nas pessoas do Magnífico Reitor Prof. Dr. Hermano M. F. Tavares, e Vice Reitor Prof. Dr. Fernando Galembeck.

À Direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, nas pessoas do Digníssimo Diretor Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum e Vice Diretor Frab Norberto Boscolo.

À Profa. Dra. Altair Antoninha Del Bel Cury, Coordenadora Geral dos Cursos de Pós-Graduação da FOP-UNICAMP e à Profa. Dra. Brenda Paula F. A. Gomes, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica.

À AS Technology Ltda., na pessoa do senhor Sidival Dias, que gentilmente forneceu os implantes de titânio utilizados neste estudo.

À Disciplina de Histologia da FOP-UNICAMP, nas pessoas do Prof. Dr. Sérgio Line pelo auxílio nas fotografias de fluorescência e empréstimo dos equipamentos necessários e Prof. Dr. José Merzel pela orientação na análise histométrica.

À Disciplina de Anatomia do Instituto de Biologia, UNICAMP, na pessoa da Profa. Dra. Júlia Marques, pelo empréstimo do microscópio de fluorescência.

Aos senhores Wanderley Francisco Vieira, bioterista da FOP-UNICAMP, e Benedito Batista de Miranda Filho pelos cuidados dispensados aos animais durante a pesquisa.

À Srta. Heloísa Maria Ceccotti, bibliotecária da FOP-UNICAMP, pela orientação na formatação da tese.

À Srta. Eliete Aparecida F. Lima, secretária da Área de Periodontia, pela amizade e auxílio inestimável.

À UNIFOR, na pessoa da Coordenadora do Curso de Odontologia, Polyanna M. R. Novais, e a todos meus colegas de disciplina, Sérgio, Olívia e Márlcio, pela paciência, compreensão e apoio.

Aos amigos Ivana, Bruno e Marcelo pelo auxílio nas cirurgias e aos amigos Getúlio e Marcio pela amizade especial, compreensão, auxílio e apoio.

À minha família, bem como aos meus amigos queridos, de São Paulo, do Ceará e do Paraná, e a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

Resumo	1
Abstract	2
1. Introdução	3
2. Revisão da Literatura	6
2.1 - Implantes dentais de titânio	6
2.1.1 - Influência das características superficiais dos implantes sobre sua taxa de sucesso	7
2.1.2 - Etiologia das falhas dos implantes dentais	9
2.2 - Consumo de cigarros de tabaco	12
2.2.1 - Efeitos do consumo de cigarros sobre a saúde e processo de reparo dos tecidos ósseo e periodontal	13
2.2.2 - Efeitos do consumo de cigarros sobre o sucesso dos implantes dentais	15
2.3 – Nicotina	18
2.3.1 - Estudos <i>in vitro</i>	20
2.3.2 - Estudos <i>in vivo</i>	23
3. Materiais e Métodos	25
3.1 - Seleção dos animais	25
3.2 - Procedimento cirúrgico	25
3.3 - Administração da nicotina	27
3.4 - Administração do marcador ósseo	27
3.5 - Análise histométrica	28
3.6 - Análise Estatística	30
4. Resultados	31
4.1 - Área relativa de tecido ósseo por rosca do implante	31
4.2 - Extensão relativa do tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante.	33
4.3 - Intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado	38
5. Discussão	42

6. Conclusão	49
Referências Bibliográficas	50
Apêndice	60
Anexos	66

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio com diferentes tratamentos de superfície colocados em tíbias de coelhos. Trinta e dois coelhos Nova Zelândia, adultos, fêmeas, sob anestesia geral, receberam dois implantes de titânio em cada tíbia, sendo dois usinados e dois jateados com óxido de alumínio. Os animais foram sorteados para receber um dos seguintes tratamentos: a) solução fisiológica, b) 0,18 mg de nicotina/Kg de peso corporal/dia; c) 0,56 mg/Kg/dia; d) 0,93 mg/Kg/dia, através de injeção subcutânea. Após a inserção dos implantes, aos sete e 14 dias, receberam aplicação intramuscular de solução de calceína a 2%, para marcação do tecido ósseo neoformado. Os animais foram sacrificados 42 dias após a colocação dos implantes. Secções não descalcificadas foram avaliadas histometricamente e através de microscopia de fluorescência para os parâmetros: intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado, área relativa do tecido ósseo por rosca do implante e extensão relativa de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante. Os dados obtidos foram comparados estatisticamente pelo teste ANOVA. Houve diferença estatística significativa ($p=0,015$) para o parâmetro extensão do tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante entre os implantes com superfície tratada quando comparados aos de superfície usinada, para os grupos que receberam nicotina C e D ($37,85\% \pm 8,85$ e $30,13\% \pm 4,97$; $33,13\% \pm 8,87$ e $27,79\% \pm 3,93$, respectivamente). Dentro das condições experimentais empregadas, foi possível concluir que a nicotina não influenciou o reparo ósseo ao redor dos implantes de titânio para os parâmetros avaliados. E implantes com superfície tratada favoreceram a extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante nos animais tratados com nicotina.

ABSTRACT

The present study investigated the possible influence of nicotine on the bone healing process around machined and rough surfaced titanium implants inserted in the tibiae of rabbits. Thirty-two female New Zealand rabbits were included. After anesthesia, the tibiae surface was exposed and two screw-shaped commercially available pure titanium implants 7.0 mm in length and 3.75 mm in diameter were placed bilaterally. A total of 128 implants were inserted: 64 with a rough surface finish (aluminum oxide blasted) and 64 with a machined surface finish. The animals were randomly assigned to one of the four treatment groups, including daily subcutaneous injections of nicotine: a) saline solution, b) 0.18 mg/Kg, c) 0.56 mg/Kg and d) 0.93 mg/Kg. In order to label regenerated bone a 2% calcein green solution was administered by intramuscular injection at 0, 7, 14 days after implant insertion. After 42 days, the animals were sacrificed and undecalcified sections were prepared. The degree of bone contact with the implant surface, the bone area and the intensity of bone labeling were measured into the limits of the threads of the implant. Two way ANOVA were used to compare the results. Statistically significant difference was found for the degree of bone contact with the implant surface between smooth and rough surfaces finishes for C and D groups ($30,13\% \pm 4,97$ and $37,85\% \pm 8,85$; $27,79\% \pm 3,93$ and $33,13\% \pm 8,87$, respectively, $P=0,015$). Within the limits of the present study, it was concluded that nicotine had no effect on the bone repair around titanium implants inserted in rabbit tibiae, and rough surfaced implants improved bone/implant contact for nicotine groups.

1. INTRODUÇÃO

O uso de implantes de titânio como suporte para próteses dentárias tornou-se bastante popular nas últimas décadas (BAIN & MOY, 1993), existindo na literatura relatos de altas taxas de sucesso (BRANEMARK *et al.*, 1977; ADELL *et al.*, 1981; ZARB & SCHMITT, 1990; LINDQUIST *et al.*, 1996, 1997; JONES *et al.*, 1999).

Entretanto, diversos fatores estão relacionados com o insucesso clínico dos implantes dentais, como o estado de saúde geral do paciente, ocorrência de contaminação bacteriana ou trauma cirúrgico e qualidade óssea do leito receptor (ESPOSITO *et al.*, 1998). Segundo COCHRAN (1999), áreas com melhor qualidade óssea apresentam taxas de sucesso mais altas do que aquelas com tecido ósseo tipos III ou IV (segundo a classificação de LECKHOLM & ZARB, 1985), comumente encontrados na região posterior da maxila. Neste caso, implantes com superfície tratada (rugosa) proporcionam maior superfície de contato entre o tecido ósseo e a superfície do implante, aumentando as taxas de sucesso (COCHRAN, 1999; LAZZARA *et al.*, 1999).

Entre os fatores que afetam negativamente a taxa de sucesso dos implantes de titânio, o consumo de cigarros de tabaco ocupa local de destaque (BAIN, 1996; FARTASH *et al.*, 1996; ESPOSITO *et al.*, 1998). Estudos clínicos verificaram que o consumo de cigarro prejudica o preenchimento sangüíneo dos alvéolos dentários pós-extração, favorecendo o desenvolvimento de alveolite seca (MEECHAN *et al.*, 1988); predispõe a uma pior qualidade óssea (BAIN & MOY, 1997); reduz a taxa de sucesso dos implantes osseointegrados (De BRUYN & COLLAERT, 1994; BAIN & MOY, 1997), estando mais relacionado aos insucessos dos implantes dentais do que outros fatores importantes das histórias médica e

odontológica (GORMAN *et al.*, 1994), como a deficiência hormonal em pacientes pós-menopausa (MINSK & POLSON, 1998).

Mesmo com a manutenção de higiene bucal adequada, fumantes apresentam maior tendência ao sangramento gengival, profundidade de sondagem, inflamação tecidual, bem como maior perda óssea ao redor dos implantes (perimplantite) do que pacientes não fumantes (HAAS *et al.*, 1996; LINDQUIST *et al.*, 1996). Além disso, o consumo de cigarros dificulta a reparação de enxertos ósseos (JONES & TRIPLETT, 1992; KAN *et al.*, 1999), sendo seus efeitos deletérios diretamente proporcionais à quantidade diária de cigarros fumados (BAIN & MOY, 1997).

Esses achados levaram alguns autores a contra-indicar a colocação de implantes dentais em pacientes fumantes (OIKARINEN *et al.*, 1995) ou mesmo modificar a seleção dos candidatos à colocação de implantes em estudos multicentros, a fim de aumentar a taxa de sucesso dos implantes dentais de titânio (LEMONS *et al.*, 1997).

Dentre as 2000 substâncias potencialmente tóxicas da fumaça do cigarro, a nicotina é uma das mais importantes (REYNOLDS, 1996, JAMES *et al.*, 1999). Em estudo realizado com as marcas comerciais de cigarros nos Estados Unidos em 1967, MOORE *et al.* encontraram uma variação de 0,3 a 2,6 mg de nicotina por cigarro.

Após o consumo de cigarros de tabaco, os níveis plasmáticos de nicotina variam de 15 ng a 1,8 µg/ml, e os níveis salivares de 96 ng a 1,6 mg/ml (McGUIRE *et al.*, 1989; TRIPTON & DABBOUS, 1995; GONZALEZ *et al.*, 1996). Na cavidade bucal, as concentrações são bastante altas, em função do contato direto com a fumaça do cigarro e da produção contínua de saliva e de fluido crevicular, este último atuando como reservatório da substância em níveis

cinco a seis vezes mais altos que o plasma ou a saliva (McGUIRE, *et al.*, 1989; PEACOCK *et al.*, 1993; PAYNE, *et al.*, 1996).

Diversas funções celulares e de defesa são alteradas pela ação da nicotina durante o consumo de cigarro, como a adesão e proliferação dos fibroblastos (JAMES *et al.*, 1999) e a atividade dos neutrófilos/monócitos (PABST *et al.*, 1985). A nicotina provoca aumento da secreção da prostaglandina E₂ (PGE₂) modulada por lipopolissacarídeos bacterianos pelos monócitos periféricos do sangue (PAYNE *et al.*, 1996), bem como efeitos adversos diretos sobre as células do ligamento periodontal (GINNOPOULOU *et al.*, 1999). Em um estudo experimental em ratos, no qual formação óssea subperiosteal foi estimulada, BOYNE & HERFORD (1995) observaram que animais expostos à fumaça do cigarro produziram menos tecido ósseo que animais controles. Ratos que não foram expostos à fumaça do cigarro, mas receberam 1,0 mg diário de nicotina através de adesivo transdérmico exibiram 35% menos crescimento ósseo do que aqueles expostos à fumaça do cigarro e 50% menos crescimento ósseo que o grupo controle.

Até o momento, não há informações disponíveis na literatura sobre o efeito da nicotina sobre o processo de reparo ósseo ao redor dos implantes de titânio. Assim, usando análise histométrica e por fluorescência, o objetivo do presente estudo foi: 1) avaliar os efeitos da administração diária de nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio colocados em tíbias de coelhos, e 2) investigar se as características superficiais dos implantes poderiam, quantitativamente, influenciar o reparo ósseo ao redor dos implantes após a administração de nicotina.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1-Implantes dentais de titânio

BRANEMARK *et al.* (1969) observaram inicialmente a forte união entre o titânio e o tecido ósseo, bem como a ausência de reações adversas frente à colocação de dispositivos de titânio através do tecido ósseo e gengiva. Definiram que a integridade de uma boa ancoragem óssea requeria preparação cirúrgica atraumática dos tecidos moles e duros, implantes mecânica e quimicamente limpos; um período de tempo com o implante isolado da cavidade bucal, no interior dos tecidos e higiene bucal para prevenir a inflamação gengival.

O acompanhamento por 10 anos de próteses instaladas sobre implantes dentais de titânio em uma série consecutiva de pacientes foi relatado por BRANEMARK *et al.* (1977), que observaram estabilidade contínua em 99% das próteses mandibulares e 76% das maxilares. Após procedimentos clínicos adicionais, os resultados foram de 100% para as próteses inferiores e 94% para as superiores.

Desde então, diversos relatos na literatura confirmaram a alta taxa de sucesso dos implantes dentais: ADELL *et al.* (1981) relataram o acompanhamento dos implantes dentais osseointegrados por um período de 15 anos, quando 81% dos implantes colocados na maxila e 91% na mandíbula permaneceram estáveis e suportando próteses. ZARB & SCHMITT (1990) relataram 89% de sucesso na colocação de implantes suportando próteses em períodos de quatro a nove anos. LINDQUIST *et al.* (1996) relataram 99,3; 98,9 e 98,9 % de sucesso após 1, 10 e 15 anos. WEYANT (1997) relataram 96,1% de sucesso em implantes colocados no período de cinco anos. JONES *et al.* (1999) relataram 92,8% de sucesso para implantes de titânio e hidroxiapatita antes da instalação da prótese e 95,3% após colocação da carga protética.

2.1.1- Influência das características superficiais dos implantes sobre sua taxa de sucesso

Estudos em animais revelaram que implantes com superfície rugosa favorecem a porcentagem de tecido ósseo em contato com a superfície do implante de maneira diretamente proporcional ao tamanho dos poros (BUSER *et al.*, 1991; WENNERBERG *et al.*, 1995; COCHRAN *et al.*, 1998). Desta maneira, tratamentos de superfície que produzem poros e irregularidades de maiores dimensões, como o jateamento com partículas grandes (60 a 100 µm) de óxido de alumínio (principalmente quando seguido por condicionamento ácido) e o plasma-spray de titânio favorecem maior contato osso/implante que tratamentos que produzem pequenas irregularidades, como jateamento com partículas pequenas de óxido de alumínio ou apenas condicionamento ácido (BUSER *et al.*, 1991). Aparentemente, a maior proporção de tecido ósseo em contato com a superfície do implante observada para implantes com superfície rugosa persiste mesmo após a colocação de carga protética (COCHRAN *et al.*, 1998).

Estudos em animais demonstraram ainda que implantes com tratamentos superficiais que produzem rugosidade requerem mais torque para sua remoção do que implantes com superfície usinada, revelando uma interface osso/implante mais resistente que os implantes usinados (CARLSSON *et al.*, 1988; WENNERBERG *et al.*, 1995; BUSER *et al.*, 1999).

In vitro, estas observações podem ser explicadas pela afinidade demonstrada pelos osteoblastos por superfícies rugosas irregulares, que, segundo BOWERS *et al.* (1992), além de fornecerem maior área, favorecem a adesão não apenas de células, mas da matriz extracelular (ou camada de proteínas pré-condicionadoras). Também MATSUO *et al.* (1999) observaram que implantes com superfície tratada oferecem maior área de contato para o tecido ósseo,

tornando muito mais fáceis a migração e a proliferação celulares, bem como a produção de substâncias extracelulares.

Clinicamente, LAZZARA *et al.* (1999) compararam a porcentagem do tecido ósseo em contato direto com implantes com duas superfícies opostas: usinada e tratada com ácidos (Osseotite®) colocados em seres humanos. Seis meses após a colocação dos implantes na região posterior da maxila (osso tipo III ou IV), o lado com superfície tratada dos implantes apresentou extensão de tecido ósseo em contato com a superfície do implante estatisticamente superior ao lado com superfície usinada. Os autores atribuíram o melhor desempenho da superfície tratada ao seu potencial osteocondutor.

COCHRAN (1999) realizou revisão da literatura e meta-análise com estudos clínicos com três das superfícies mais utilizadas em implantologia: usinada, recoberta com plasma-spray de titânio e recoberta com hidroxiapatita. Segundo o autor, o objetivo de utilizar implantes com superfície tratada é aumentar a superfície disponível para osseointegração, favorecendo o sucesso de implantes colocados em regiões de má qualidade óssea, como a região posterior da maxila. Na análise realizada, implantes com superfície tratada superaram clinicamente os com superfície usinada em certas situações, como em pacientes edentados totais, reabilitações com sobre-dentaduras e edentados parciais, principalmente na maxila. Em situações mais previsíveis, como mandíbula (boa qualidade óssea) e implantes unitários (boa quantidade de remanescente ósseo), as características da superfície não influenciaram o sucesso dos implantes.

ESPOSITO *et al.* (1998) em revisão de literatura sobre a etiopatogênese das falhas dos implantes osseointegrados, observaram que as características superficiais dos implantes podem favorecer as falhas em níveis significativos. Implantes com superfície tratada falharam mais

devido à infecção marginal recorrente. Porém, como a superfície tratada favorece a osseointegração, há menor ocorrência de falhas devido à sobrecarga oclusal. A tendência oposta é observada em implantes com superfície usinada: há menor ocorrência de peri-implantite, porém o menor contato tecido ósseo/implante favorece falhas devido à sobrecarga oclusal, principalmente em regiões com má qualidade óssea ou volume insuficiente de tecido ósseo (implantes curtos).

2.1.2- Etiologia das falhas dos implantes dentais

JAFFIN & BERMAN (1991) encontraram 35% de falhas em implantes colocados em osso tipo IV, contra 3% de falhas em implantes colocados em ossos dos tipos I, II e III. Consideraram a existência de osso tipo IV no leito receptor dos implantes dentais como o maior determinante isolado das falhas de osseointegração.

JONES & TRIPLETT (1992) verificaram a dificuldade de reparo tecidual em pacientes que receberam enxertos ósseos seguidos de implantes dentais de titânio. Dos 15 pacientes examinados, cinco apresentaram problemas de reparo, com perda do enxerto e/ou do implante. Destes cinco, quatro admitiram ter fumado no período pré ou pós-operatório. Os autores consideraram o consumo de cigarros como um fator de risco controlável, mas altamente relacionado com problemas no reparo tecidual.

WEYANT (1994) avaliou as probabilidades de sucesso dos implantes dentais baseando-se nas falhas e nas condições dos tecidos moles peri-implantares. Concluiu que o sucesso estava relacionado à saúde geral dos pacientes, características superficiais dos implantes e complicações trans e pós-cirúrgicas. Já a saúde dos tecidos moles peri-implantares estava relacionada com o consumo de cigarros de tabaco (que o autor considerou ter efeito

apenas local, não sistêmico, por afetar a qualidade do reparo, mas não a taxa de sucesso dos implantes), características superficiais do implante e experiência do operador.

GORMAN *et al.* (1994), avaliaram 70 variáveis das histórias médica e dental, bem como fatores de exclusão, procurando relação com perdas precoces (anteriores à instalação de carga protética) de implantes dentais. Cada variável foi analisada separadamente para cada implante, caso protético e paciente. A única variável que apresentou diferença estatística para as três bases analisadas foi o consumo de cigarros.

OIKARINEN *et al.* (1995), estudaram as contra-indicações gerais e locais mais comumente encontradas para a colocação de implantes dentais através de questionário e avaliação de radiografias panorâmicas numa população de 65 anos de idade. Estabeleceram problemas cardíacos e hipertensão como sendo as contra indicações relativas mais freqüentes, seguidas por problemas pulmonares e diabetes. Onze por cento dos pacientes eram fumantes e 21% apresentavam osso tipo IV.

FARTASH *et al.* (1996) relataram quatro casos de pacientes que perderam todos implantes colocados na mandíbula antes da instalação das próteses. Segundo os autores, todos os pacientes apresentavam osso tipo IV e eram fumantes severos (30 a 40 cigarros por dia). Os autores concluíram que o consumo de cigarro pode ser um dos maiores fatores de risco para o sucesso dos implantes dentais.

LINDQUIST *et al.* (1996, 1997) avaliaram a taxa de sucesso dos implantes em função após 15 anos, encontrando cerca de 98,9% de sucesso. Segundo os autores, o consumo de cigarros foi o principal fator de perda óssea marginal, em especial quando associado à má higiene bucal, e principalmente em dentes anteriores. Pacientes fumantes com má higiene bucal perderam em média três vezes mais osso marginal que não fumantes após 10 anos, de

maneira dose-dependente. Outros fatores tradicionalmente relacionados à etiologia das falhas dos implantes dentais, como a sobrecarga oclusal, foram de menor importância.

JONES *et al.* (1997) compararam as falhas precoces de implantes recobertos por plasma-spray de titânio ou hidroxiapatita e perceberam que 9% dos pacientes não fumantes apresentaram insucessos, contra 26% dos pacientes fumantes. Os autores concluíram que o histórico de consumo de cigarros exerce um importante papel nas falhas precoces dos implantes, independente de suas características superficiais. Continuando nesta linha de pesquisa, em 1999, JONES *et al.* encontraram menor taxa de sucesso para implantes curtos. Antes da colocação de carga protética (falhas precoces), houve mais falhas na mandíbula posterior, após a instalação da prótese (falhas tardias), os insucessos foram mais frequentes na maxila anterior. Implantes falharam mais frequentemente quando possuíam dentes naturais como antagonistas. O consumo de cigarro também foi etiologia significativa nas falhas dos implantes, enquanto as características superficiais não ofereceram diferenças.

ESPOSITO *et al.* (1998), em revisão de literatura sobre a etiopatogênese das falhas dos implantes dentais, dividiram estes fatores em endógenos sistêmicos (idade/genética, saúde geral, consumo de cigarros); endógenos locais (quantidade/qualidade óssea, localização anatômica, enxertos ósseos, parafunções, resposta imune/periodontite, faixa de mucosa queratinizada adequada, radioterapia); exógenos relacionados ao operador (experiência, técnica, protocolo seguido) ou exógenos relacionados ao material (biocompatibilidade, características superficiais, desenho do implante). Segundo os autores, pouco se conhece da etiologia das falhas precoces, mas com certeza não se devem à rejeição dos implantes, mas à falha de resposta osteogênica em função dos fatores endógenos e/ou exógenos. Já as falhas tardias possuem etiologia multifatorial, como sobrecarga oclusal e infecção bacteriana, sendo que ignora-se qual das duas inicia o processo.

MINSK & POLSON (1998), não encontraram correlação entre a taxa de sucesso dos implantes dentais em mulheres pós-menopausa recebendo ou não reposição hormonal, porém para o grupo observado o consumo de cigarros foi o fator mais relacionado com o aumento do insucesso dos implantes colocados.

2.2-Consumo de cigarros de tabaco

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que haja 1,1 bilhão de fumantes no mundo, sendo que, destes, 88 milhões vivem nos países em desenvolvimento. Todos os anos o consumo de cigarros é responsável por 3,5 milhões de mortes, sendo a expectativa para o ano 2030 de 10 milhões de mortes anuais, 70% delas ocorrendo nos países em desenvolvimento.

Países que produzem tabaco e industrializam cigarros, como o Brasil, estão entre os que apresentam maior tendência ao aumento do tabagismo. Estima-se que nos países em desenvolvimento do continente americano 40% dos homens e 21% das mulheres sejam fumantes, e, no Brasil, cerca de 32,6% da população adulta seja fumante (PAHO, 2000).

O consumo de cigarros de tabaco está relacionado ao desenvolvimento de diversas patologias, como bronquite crônica, cânceres de pulmão, laringe, esôfago, garganta, boca e pâncreas, doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral, doença obstrutiva pulmonar crônica, e para crianças nascidas de mães fumantes, baixo peso neonatal e síndrome da morte súbita infantil (PAHO, 2000).

2.2.1-Efeito do consumo de cigarros sobre a saúde e processo de reparo dos tecidos ósseo e periodontal

Provavelmente devido à ação vasoconstritora da nicotina, o consumo de cigarros foi relacionado com menor preenchimento sangüíneo dos alvéolos dentários pós-extração, bem como a maior incidência de alveolite seca (MEECHAN *et al.*, 1985) e a maior ocorrência de osteíte localizada após exodontia de terceiros molares inferiores (SWEET & BUTLER, 1979). Segundo ESPOSITO *et al.* (1998), a tensão de oxigênio pode influenciar o processo de formação óssea, assim, um suprimento de oxigênio considerado adequado para células em repouso pode ser inadequado para as mesmas células num período de proliferação e síntese.

O consumo de cigarros de tabaco está relacionado ao desenvolvimento e progressão das doenças periodontais (JOHNSON *et al.*, 1999; ALBANDAR *et al.*, 2000), assim como à reabsorção da crista óssea alveolar (BERGSTRÖM *et al.*, 1991), agravando a redução da altura e densidade do osso alveolar em mulheres após a menopausa com doença periodontal (PAYNE *et al.*, 2000). O consumo de cigarros ou de outros derivados de tabaco, como charutos e cachimbo, também está associado a maior risco de perdas dentárias precoces, especialmente quando associado à má higiene bucal (HOLM, 1994; ALBANDAR *et al.*, 2000). Indivíduos fumantes com saúde periodontal têm 18 vezes mais chances de ter o sulco gengival colonizado por patógenos periodontais que não fumantes, de acordo com a quantidade e duração do consumo de cigarros (SHILOAH *et al.*, 2000).

LIEDE *et al.* (1999) verificaram maior prevalência de leucoplasia oral, periodontite, supuração e reabsorção óssea, menor capacidade tampão da saliva; bem como atividades proteolítica geral salivar e da matriz metaloproteinase oito (MMP-8) mais baixas em pacientes fumantes que ex-fumantes.

FREDRIKSSON *et al.* (1999) encontraram contagem sangüínea de células brancas e neutrófilos aumentada em fumantes. No plasma dos fumantes, os autores encontraram menor taxa de tripsina alfa-1. O consumo de cigarro também reduziu a síntese de IgG, principalmente a IgG₂, dificultando a fagocitose anticorpo-dependente pelos neutrófilos. Já PAULETTO *et al.* (2000) encontraram menor número de neutrófilos e nível de elastase na cavidade bucal de fumantes com doença periodontal do que não fumantes e ex-fumantes com os mesmos achados. Os autores consideraram a possibilidade de, em pacientes fumantes com doença periodontal, os neutrófilos ficarem restritos aos tecidos, incapazes de migrar via sulco para a cavidade bucal, em função do efeito vasoconstritor do consumo de cigarros. PERSSON *et al.* (1999) afirmaram que apesar do menor volume de fluido crevicular nos pacientes fumantes, não houve diferenças entre as atividades dos neutrófilos (medida através da produção de elastase, lactoferrina, antitripsina alfa-1, macroglobulina alfa-2 e proteínas) em fumantes leves recentes com saúde gengival ou inflamação leve quando comparados aos de não fumantes com mesmos achados gengivais.

BOSTRÖM *et al.* (1998, 1999) encontraram níveis mais altos de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no fluido crevicular de fumantes com doença periodontal quando comparados com não fumantes com os mesmos achados. Segundo BOUTROS *et al.* (1996), diversas enzimas presentes no fluido crevicular utilizadas como indicadores de progressão da doença periodontal (como elastase, mieloperoxidase, glucoronidase-beta) também servem como indicadoras de risco de falhas dos implantes dentais, ou atividade de doença peri-implantar.

TRIKILIS *et al.* (1999) encontraram menor temperatura subgengival em bolsas periodontais de pacientes fumantes, e relacionaram o achado com inflamação menos intensa

seguida, BAIN (1996) sugeriu um protocolo de interrupção do consumo de cigarros uma semana antes e oito após a colocação dos implantes dentais e percebeu uma redução significativa nos insucessos de implantes em fumantes que seguiram o protocolo, quando comparados àqueles que não o seguiram. Os fumantes que seguiram o protocolo apresentaram uma resposta biológica semelhante aos pacientes não fumantes, principalmente porque, segundo o autor, os efeitos da nicotina são reversíveis com o tempo.

De BRUYN & COLLAERT (1994) correlacionaram o efeito do consumo de cigarros sobre falhas precoces dos implantes. Para as falhas observadas na mandíbula (0,5%), nenhuma relação foi observada. Entretanto, para os implantes colocados na maxila, 4% falharam, sendo que, para os pacientes fumantes a porcentagem de insucessos foi de 9%, enquanto para os pacientes não fumantes foi de 1%, diferença estatisticamente significativa. As falhas em pacientes não fumantes foram relacionadas com má qualidade óssea. Após a colocação de carga protética, as falhas foram de 13% nos fumantes contra 2% em não fumantes, em períodos de três a 36 meses. Nesse estudo não foram encontradas diferenças entre a qualidade óssea de pacientes fumantes e não fumantes, entretanto a quantidade do tecido ósseo remanescente dos não fumantes era mais favorável. Os autores acreditam que a massa óssea não seja o fator mais importante no prognóstico inicial dos implantes, mas a qualidade, sim. Os autores concluíram que o fumo é um fator importante, mas não o único, para a perda precoce dos implantes dentais.

Em virtude da dificuldade de determinar a real participação do consumo de cigarros sobre as falhas dos implantes dentais em estudos retrospectivos, HAAS *et al.* (1996) avaliaram os efeitos do consumo de cigarros sobre os tecidos peri-implantares e o desenvolvimento de peri-implantite. Constataram que apesar da higiene bucal semelhante, fumantes apresentaram maior índice de sangramento gengival, maior profundidade de sondagem, maior inflamação,

em função da ação vasoconstritora da nicotina sobre a circulação periférica e menor atividade celular, gerando menos calor. Apesar destas afirmativas, PALMER *et al.* (1999) não encontraram evidências que comprovassem a teoria de vasoconstrição localizada dos tecidos gengivais por ação do consumo de cigarros, sugerindo uma possível tolerância dos fumantes aos componentes vasoativos da fumaça do cigarro.

HANIOKA *et al.* (2000a) encontraram menor tensão de oxigênio nas bolsas periodontais de fumantes, quando comparada à de não fumantes. Da mesma maneira, fumantes exibiram menor oxigenação na gengiva saudável e adaptabilidade reduzida da função vascular à inflamação gengival. Aparentemente, fumantes apresentam disfunção da microcirculação gengival (HANIOKA *et al.*, 2000b).

2.2.2-Efeito do consumo de cigarro sobre o sucesso dos implantes dentais

As evidências do consumo de cigarro como fator predisponente para as falhas dos implantes osseointegrados, e a ausência de estudos clínicos bem delineados que permitissem uma avaliação adequada (GORMAN *et al.*, 1994; LINDQUIST *et al.*, 1996, 1997; ESPOSITO *et al.*, 1998; JONES *et al.*, 1999) levaram outros autores a investigar a relação clínica direta do consumo de cigarros com a taxa de sucesso dos implantes dentais de titânio.

BAIN & MOY (1993) compararam a taxa de sucesso dos implantes dentais em pacientes fumantes e não fumantes, sem diferenciar falhas precoces de tardias e encontraram maior incidência entre os fumantes (11,28%) do que não fumantes (4,76%), para todas as regiões examinadas, exceto na mandíbula posterior. As falhas aumentaram inversamente proporcionais ao comprimento do implante. Os autores classificaram o consumo de cigarros como um fator significativo para a redução da taxa de sucesso dos implantes dentais. Em

maior perda óssea ao redor dos implantes do que os pacientes não fumantes. Os achados na maxila dos pacientes fumantes foram significativamente piores que na mandíbula dos próprios pacientes fumantes e do que na maxila dos não fumantes.

Tomando por base o estudo de JAFFIN & BERMAN (1991), BAIN & MOY (1997) relacionaram o consumo de cigarros e a qualidade óssea em pacientes submetidos a implantes dentais de titânio. Para tanto, dividiram os pacientes examinados em não fumantes, fumantes leves (1 a 10 cigarros por dia), moderados (11 a 20 cigarros por dia) ou severos (mais de 20 cigarros por dia). Observaram que, nos pacientes não fumantes e fumantes leves, 17,6% dos locais com implantes apresentaram osso tipo IV, enquanto que nos fumantes moderados e severos, 37,9% dos locais que receberam implantes apresentavam osso tipo IV, diferença estatística significativa. Também houve diferença estatística quando a porcentagem de falhas em não fumantes e fumantes leves (4,42 e 4,92%, respectivamente), foi comparada à dos fumantes moderados e severos (15,06 e 12,8%, respectivamente). Os autores concluíram que o consumo de cigarros predispõe tanto à ocorrência de osso tipo IV quanto às falhas dos implantes dentais, e que estes eventos estão relacionados à quantidade diária de cigarros fumados.

KAN *et al.* (1999) avaliaram os efeitos do consumo de cigarros sobre o sucesso de implantes dentais em seios maxilares que receberam enxertos ósseos, com período de acompanhamento de dois a 60 meses. Observaram que a taxa de sucesso dos implantes em pacientes não fumantes (82,7%) foi estatisticamente superior à dos pacientes fumantes (65,3%), sendo que as falhas foram independentes da quantidade de cigarros consumida por dia. Os autores consideraram que a necessidade de enxerto ósseo no seio maxilar pode criar um fator adicional para o futuro comprometimento do sucesso dos implantes em fumantes.

2.3- Nicotina

A fumaça do cigarro consiste em uma fase gasosa, composta por monóxido e dióxido de carbono, nitrogênio e oxigênio, e uma fase particulada, contendo nicotina, água, nitratos, nitrosaminas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (McGUIRE, *et al.*, 1989; HANES *et al.*, 1991). Destes, a nicotina é o principal agente psicoativo e possui diversos efeitos biológicos importantes (HANES *et al.*, 1991; PAYNE, *et al.*, 1996), mas é apenas uma das 2000 substâncias potencialmente tóxicas da fumaça do cigarro (JAMES *et al.*, 1999).

A nicotina, [(S) -3- (Metilpirrilodina-2-yl)piridina)] é um alcalóide líquido obtido das folhas secas do tabaco (*Nicotiana tabacum*), erva nativa da América do Sul. As folhas do tabaco contêm de 0,6 a 9% de nicotina na forma de malatos ou citratos (REYNOLDS, 1996; ROBBERS *et al.*, 1997).

A nicotina provoca estimulação primária transitória seguida por depressão persistente de todos os gânglios nervosos simpáticos e parassimpáticos, através da despolarização da membrana neuronal pós-sináptica. Entre seus efeitos estão: hipertensão, taquicardia, estado de alerta, diminuição dos reflexos profundos e do tônus muscular esquelético (GENNARO, 1998). Trata-se de substância altamente tóxica, que em doses elevadas leva ao óbito em poucos minutos devido à paralisia dos músculos respiratórios (depressão do sistema nervoso central). A dose letal de nicotina para um adulto é de 30 a 60 mg. Uma intoxicação menos severa ocasiona queimação da boca e garganta, náusea e salivação, vômito, dor abdominal, diarreia, confusão mental, tontura, dor de cabeça, visão e audição dificultadas e prostração (REYNOLDS, 1996; GENNARO, 1998).

É rapidamente absorvida através da pele, mucosas e inalação (REYNOLDS, 1996). Possui alto poder viciante e seu uso crônico pode causar dependência psicológica e física

(ROBBERS *et al.*, 1997; PAHO, 2000), considerada tão forte quanto a causada pela heroína ou cocaína (PAHO, 2000).

A nicotina tem meia-vida plasmática curta (de 30 a 150 minutos), quando então é convertida no fígado em seu metabólito primário, a cotinina (GENNARO, 1998), que apresenta meia-vida plasmática bem mais longa (11 a 24 horas) (GONZALEZ *et al.*, 1996; JAMES *et al.*, 1999). A longa meia-vida plasmática da cotinina indica que as células *in vivo* podem ficar expostas aos efeitos biológicos da mesma por longos períodos de tempo (JAMES *et al.*, 1999).

Após o consumo de cigarro de tabaco, os níveis plasmáticos de nicotina variam de 15 ng a 1,8 µg/ml, e os níveis salivares de 96 ng a 1,6 mg/ml (TRIPTON & DABBOUS, 1995; JAMES *et al.*, 1999). Os níveis de cotinina permanecem relativamente constantes durante um longo período de tempo, no plasma variando de 48 ng a 1,1 µg/ml, na saliva de 158 ng a 1,05 µg/ml e no fluido crevicular de 206 ng a 8,05 µg/ml (5 a 6 vezes maiores que na saliva) (McGUIRE, *et al.*, 1989; GONZALEZ *et al.*, 1996; PALMER *et al.*, 1999). Durante o ato de fumar, a concentração de nicotina na cavidade bucal pode atingir níveis ainda mais altos do que aqueles encontrados no plasma e na saliva (McGUIRE, *et al.*, 1989; PAYNE, *et al.*, 1996; PEACOCK *et al.*, 1993).

MOORE *et al.* (1967), em estudo realizado com as marcas comerciais de cigarros nos Estados Unidos, encontraram uma variação de 0,3 a 2,6 mg de nicotina presente na fase particulada da fumaça de cada cigarro.

2.3.1- Estudos *in vitro*

A função normal dos fibroblastos é crítica para a manutenção da integridade do tecido conjuntivo, sendo responsável por processos metabólicos e resposta reparadora. Aparentemente, a nicotina tem efeitos sobre várias funções dos fibroblastos, dificultando a capacidade dos mesmos de manter a integridade tecidual no processo de reparo, ao mesmo tempo estimulando a destruição tecidual (TRIPTON & DABBOUS, 1995; HANES *et al.*, 1991).

Enquanto culturas normais de fibroblastos (sejam da pele, gengiva ou derivados do ligamento periodontal) exibem uma única camada de células fusiformes, com a superfície lisa, alinhamento paralelo e mínima sobreposição, aquelas tratadas com nicotina exibem arranjo desorganizado, sem orientação, com sobreposição celular, aberrações de forma e vacuolização do citoplasma, redução do conteúdo protéico e destruição das membranas celulares, bem como alterações celulares superficiais, processos citoplasmáticos longos, microvilosidades e filopodos mais longos e finos, alteração morfológica dos microtúbulos e filamentos, responsáveis por uma aparência rugosa (RAULIN *et al.*, 1988; TRIPTON & DABBOUS, 1995; ALPAR *et al.*, 1998; TANUR *et al.*, 2000). Segundo ALPAR *et al.* (1998) estas alterações celulares são irreversíveis para concentrações altas de nicotina, que inclusive podem causar morte celular (TRIPTON & DABBOUS, 1995).

HANES *et al.* (1991) observaram que a nicotina adsorve aos fibroblastos gengivais de maneira não específica, sendo absorvida continuamente, atingindo altas concentrações intracelulares. A liberação de nicotina pelos fibroblastos ocorre de maneira lenta, não metabolizada. Os achados sugeriram associação da nicotina com componentes intracelulares, responsáveis pela alta concentração intracelular.

Diversos efeitos da nicotina sobre a função dos fibroblastos foram descritos, como diminuição ou inibição da proliferação celular (TRIPTON & DABBOUS, 1995; ALPAR *et al.*, 1998; GIANNOPOULOU *et al.*, 1999; JAMES *et al.*, 1999), da adesão celular (GIANNOPOULOU *et al.*, 1999; JAMES *et al.*, 1999; TANUR *et al.*, 2000), e da migração celular (GIANNOPOULOU *et al.* (1999). A maioria dos autores descreveu tais efeitos como dose dependentes.

Outros efeitos descritos incluem inibição da produção de fibronectina, colágeno tipo I e aumento da atividade da collagenase (TRIPTON & DABBOUS, 1995) e inibição da produção da fosfatase alcalina (GIANNOPOULOU *et al.*, 1999).

JAMES *et al.* (1999) observaram que alguns efeitos da nicotina sobre os fibroblastos, tais como inibição da proliferação e adesão, também são provocados por seu metabólito primário, a cotinina. Segundo os autores, o atraso na reparação tecidual em fumantes pode ser devido à inibição direta das funções reparadoras dos fibroblastos pela nicotina/cotinina.

PEACOCK *et al.* (1993), ao contrário dos demais autores, perceberam que quanto maior a concentração de nicotina, maior a adesão dos fibroblastos gengivais aos pratos de cultura de plástico. Baixas concentrações de nicotina inclusive estimularam a reprodução celular, enquanto altas concentrações não provocaram qualquer efeito. Segundo os autores, a nicotina pode não ser a única substância envolvida em várias respostas teciduais ao tabaco, e outros agentes presentes na fumaça do cigarro podem ser responsáveis pelos efeitos negativos. De fato, efeitos deletérios sobre os fibroblastos gengivais, como inibição da proliferação e adesão celular foram observados quando expostos aos componentes voláteis da fumaça do cigarro, como a acroleína e o acetaldeído (CATTANEO *et al.*, 2000).

PABST *et al.* (1995) verificaram que a exposição dos neutrófilos à nicotina inibiu sua capacidade bactericida. O mesmo não foi observado em ambiente anaeróbico, ou seja, a

nicotina afetou preferencialmente mecanismos de defesa aeróbios. A nicotina bloqueou a absorção de oxigênio pelas células de defesa, inibiu a produção de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio pelos neutrófilos, absorvendo o superóxido diretamente. Inibiu também a produção de superóxido e interleucina-1 β pelos monócitos, sem afetar a viabilidade celular. Segundo os autores, a inibição das funções antimicrobianas aeróbias dos neutrófilos e monócitos pode alterar a ecologia da microbiota bucal, favorecendo o desenvolvimento de patologias.

PAYNE *et al.* (1996) observaram que a nicotina sozinha não provocou aumento significativo da secreção de prostaglandina E2 (PGE₂) ou interleucina 1 β (IL-1 β) (mediadores inflamatórios responsáveis pela reabsorção óssea) pelos monócitos sangüíneos periféricos, quando comparada ao controle. Entretanto a produção de PGE₂ foi bastante aumentada quando a nicotina foi administrada com lipopolissacarídeos bacterianos (LPS). Já a secreção de IL-1 β foi maior com a solução de LPS sozinha do que associada à nicotina. Já BERNZWEIG *et al.* (1998) observaram que a nicotina aumentou significativamente a secreção de PGE₂ pelos monócitos e linfócitos sangüíneos periféricos, mas não afetou a secreção de IL-1 β . Por outro lado, a nicotina diminuiu a produção de IL-1 β pelas células mononucleares gengivais e não alterou a produção de PGE₂. Clinicamente, BOSTRÖM *et al.* (2000) confirmaram estes achados com a constatação de que o consumo de cigarros não aumentou o nível de IL-1 β , nem de seu receptor antagonista IL-1ra, no fluido gengival de pacientes fumantes com doença periodontal.

A nicotina afetou também o metabolismo ósseo, estimulando a deposição de íons cálcio pelas células osteogênicas, e aumentando a produção de fosfatase alcalina, de maneira dose-dependente. Além disso, reduziu a atividade dos osteoclastos e afetou negativamente a

diferenciação de células pré-osteoblásticas em osteoblastos maduros (YUHARA *et al.*, 1999). Sobre cultura de células osteoblásticas de osteosarcoma, a nicotina provocou inibição da proliferação celular e estimulou a produção de fosfatase alcalina (FANG *et al.*, 1991).

2.3.2- Estudos *in vivo*

Para reproduzir a situação clínica da gengivite necrosante, CLARKE *et al.* (1981) administraram nicotina e epinefrina em coelhos, nas doses proporcionais às de um ser humano fumante estressado. Apesar do aumento da pressão arterial, houve redução do fluxo sanguíneo gengival, ou seja, isquemia, que combinada à gengivite marginal crônica poderia levar a necrose epitelial.

BOYNE & HERFORD (1995), em estudo experimental em ratos, onde a formação óssea subperiosteal foi estimulada, observaram que animais expostos à fumaça do cigarro produziram menos tecido ósseo que os animais controles. Animais que não foram expostos à fumaça do cigarro, porém receberam 1,0 mg de nicotina aplicada por adesivo transdérmico exibiram 35% menos crescimento ósseo que os animais submetidos à fumaça do cigarro e 50% menos que os animais controles.

NOCITI Jr. *et al.* (2000) em estudo experimental em ratos, onde ligaduras foram colocadas ao redor de molares para desenvolver a doença periodontal e aplicação de nicotina realizada, observaram que a mesma potencializou a perda óssea provocada pelo acúmulo de placa de maneira não dose dependente, entretanto não produziu perda óssea quando administrada isoladamente.

Estudos em ortopedia sobre os efeitos da nicotina sobre a reparação óssea em animais revelaram menores níveis de vitamina D, menor conteúdo mineral e menor aposição óssea (FUNG *et al.*, 1999), assim como pior reparação de enxertos ósseos autólogos na área

receptora e doadora (RIEBEL *et al.*, 1995; HOLLINGER *et al.*, 1999), dificuldades na reparação de fraturas em osso longos e menor resistência do calo ósseo (RAIKIN *et al.*, 1998).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1-Seleção dos Animais

Foram utilizados trinta e dois (32) coelhos da raça Nova Zelândia, adultos (entre cinco e seis meses), fêmeas, com peso médio de 3500 g. Os animais foram mantidos durante todo período experimental nas mesmas condições ambientais. O estudo passou pela aprovação do comitê de ética em pesquisa com animais da UNICAMP (processo n. 202-2, em anexo).

3.2-Procedimento Cirúrgico

Foram utilizados 128 implantes de titânio comercialmente puro do tipo osseointegrável, rosqueável, com 7,0 mm de comprimento e 3,75 mm de diâmetro, conforme informações fornecidas pelo fabricante (Titanium Fix®, AS Technology Ltda., São José dos Campos, SP, Brasil). Destes, 64 implantes possuíam superfície tratada (jateamento com óxido de alumínio, partículas entre 60 e 100 µm) e 64 superfície usinada.

Antes da cirurgia, os animais foram pesados e, de acordo com seu peso corporal, receberam via intramuscular injeção de 0,5 ml/Kg de cloridrato de dihidrotiazina (Rompum®, Bayer do Brasil SA, São Paulo, SP, Brasil) e 0,5 ml/Kg de cloridrato de ketamina (Francotar®, Virbac do Brasil, Indústria e Comércio Ltda., Roseira, SP, Brasil), para indução de sedação profunda.

A superfície cutânea a ser incisada sofreu tricotomia e antissepsia com solução de álcool iodado. Com uma lâmina de bisturi nº 15, foi realizada incisão de aproximadamente 3 cm, até exposição do tecido muscular, que foi divulsionado, proporcionando livre acesso à superfície óssea externa da tibia SENNERBY *et al.*, 1992).

Utilizando motor elétrico, contra-ângulo redutor 16:1 a 1200 rotações por minuto e brocas seriadas, foram preparados dois leitos cirúrgicos em cada tíbia para a colocação dos implantes. Em seguida, dois implantes foram inseridos manualmente em cada tíbia (figura 1), dois de superfície usinada e dois de superfície tratada, sendo sorteado o lado que receberia cada tipo de implante. O tecido muscular foi reposicionado sobre a área operada e suturado em massa com fio absorvível (Catgut cromado 4-0, Cirumédica SA, Cotia, SP, Brasil), através de sutura contínua. A incisão cutânea foi suturada com pontos interrompidos simples com fio de mononylon 4-0 (Ethicon®, Johnsons do Brasil SA, São José dos Campos, SP, Brasil), recebendo a seguir aplicação de solução de álcool iodado.

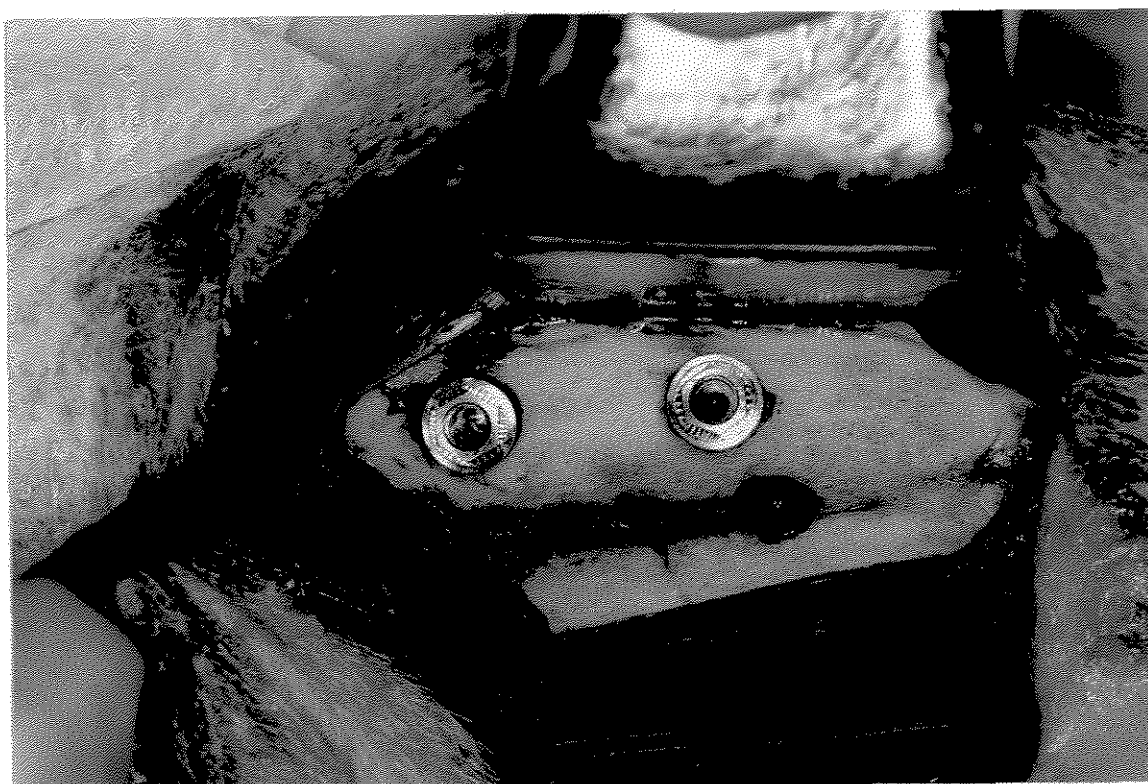


Figura 1- Implantes colocados em tíbia de coelho.

Após a cirurgia, os animais receberam aplicação única de antibiótico por via intramuscular (Pentabiótico pequeno porte, Laboratórios Wyeth-Whitehall Ltda., São Paulo, SP, Brasil). Nenhuma restrição de movimentação ou alimentação foi imposta aos animais após a cirurgia, os quais foram mantidos em grupos de três em gaiolas metálicas suspensas durante todo o período experimental.

3.3-Administração da Nicotina

Imediatamente após as cirurgias para a colocação dos implantes, foi iniciada a administração subcutânea das soluções teste e controle que prosseguiu durante 42 dias.

Os animais foram aleatoriamente (sorteio) divididos em quatro grupos de oito (8) coelhos:

Grupo Controle (A): solução fisiológica.

Grupo Teste (B): 0,18 mg de nicotina*/Kg/dia.

Grupo Teste (C): 0,56 mg de nicotina/Kg/dia.

Grupo Teste (D): 0,93 mg de nicotina/Kg/dia.

*Sigma Chemicals, St. Louis, MO, EUA

3.4-Administração do Marcador Ósseo

A fim de evidenciar o tecido ósseo neoformado, todos os animais receberam injeção intramuscular de 20 mg/Kg de uma solução de calceína verde a 2% (Merck S.A. Indústrias Químicas, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) em solução fisiológica (OGURA *et al.*, 1991; HAIDER *et al.*, 1993; STEFANI *et al.*, 2000), imediatamente após a cirurgia para colocação dos implantes (dia zero), aos sete e quatorze dias, período de maior atividade de formação óssea (ROBERTS, 1988).

3.5-Análise Histométrica

Ao final do período de 42 dias (ROBERTS, 1988; SENNERBY *et al.*, 1992), os animais foram anestesiados como descrito previamente e sacrificados com injeção intravenosa de cloreto de potássio a 19,1%. As tíbias foram removidas e seccionadas em blocos contendo os implantes, que foram colocados em formol neutro a 4% por 24 horas. Após o processo de fixação e posterior lavagem em água destilada, os espécimes foram desidratados em solução de álcool etílico sob constante agitação.

A infiltração plástica foi realizada com misturas de glicolmetacrilato (Technovit 7200 VLC - Kulzer, Wehrheim, Alemanha) e álcool etílico, seguindo variações gradativas, finalizando com duas infiltrações de glicolmetacrilato puro, sob agitação constante. Após a infiltração plástica os espécimes foram incluídos em resina e polimerizados. Os blocos de resina foram, então, seccionados de acordo com o método descrito por DONATH & BREUNER (1982), através do qual se obtiveram secções com cerca de 20 a 30 µm de espessura.

Ao final deste processo os espécimes foram examinados em microscópio de fluorescência com o objetivo de determinar diferenças na intensidade da marcação pela calceína do tecido ósseo neoformado no grupo controle e nos grupos teste (IYAMA *et al.*, 1997). As imagens foram capturadas em branco e preto, com contraste e brilho padronizados, e analisadas através do programa Corel Photo Paint 9.0 (Corel Corporation, Dublin, Ireland, UK), para a variável intensidade média da marcação do tecido ósseo neoformado, medida em escala de cinzas onde 0 corresponde ao preto e 255 ao branco.

Uma vez obtidas as imagens da marcação óssea, as secções foram coradas com solução de azul de toluidina para a avaliação histométrica, quando cada lâmina contendo uma secção do implante e tecido duro não descalcificado circundante foi observada em microscópio de luz. Através da utilização do programa de análise de imagens (Image-Pro®; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA), foram avaliadas as roscas situadas em osso cortical dos lados direito e esquerdo do implante, em seguida uma média por implante foi obtida para as seguintes variáveis (SENNERBY *et al.*, 1992; STEFANI *et al.*, 2000, figura 2):

- 1) Área relativa de tecido ósseo por rosca do implante, obtida dividindo-se a área média de tecido ósseo presente nas roscas pela área total média das roscas do implante.
- 2) Extensão relativa do tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante, calculada dividindo-se o comprimento do contato ósseo médio por rosca pelo comprimento médio das roscas do implante.

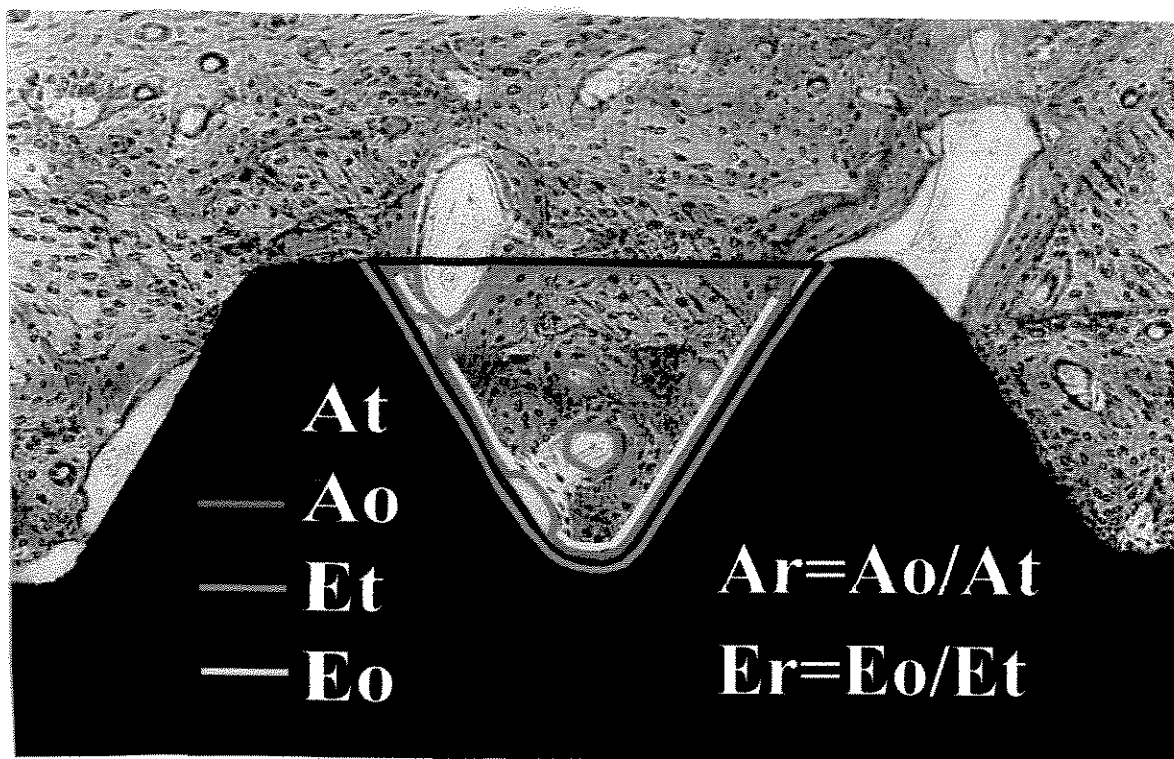


Figura 2- Representação dos parâmetros histométricos avaliados, onde **At** é a área total da rosca, **Ao** é a área de tecido ósseo por rosca e **Ar** é a área relativa de tecido ósseo por rosca do implante; e onde **Et** é a extensão total da rosca, **Eo** é a extensão de tecido ósseo em contato com a superfície do implante e **Er** é a extensão relativa de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante.

3.6-Análise Estatística

Uma vez obtidos os resultados, médias foram calculadas para cada grupo e os resultados comparados através do ANOVA de duas entradas ao nível de 5% de significância. No caso de diferença estatística significativa, o teste de comparações múltiplas de Tukey foi utilizado ao nível de 5%.

4. RESULTADOS

4.1-Área relativa de tecido ósseo por rosca do implante (figuras 3 a 10)

As médias e desvios padrão da área relativa de tecido ósseo por rosca do implante para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D estão expressos na tabela 1, e representados no gráfico 1.

Não houve diferença estatística entre os diferentes tratamentos quando comparados ao controle ($p=0,08$), nem entre implantes com superfície usinada e tratada ($p=0,184$), analisados pelo ANOVA.

Tabela 1

Médias e desvios padrão, em porcentagem, da área relativa de tecido ósseo por rosca do implante para implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D.

Grupo	Superfície Usinada	Superfície Tratada
A	75,45 \pm 4,61 aA	68,65 \pm 8,32 aA
B	72,19 \pm 5,82 aA	71,36 \pm 7,52 aA
C	74,72 \pm 5,3 aA	71,14 \pm 8,53 aA
D	71,09 \pm 6,8 aA	64,84 \pm 12,99 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo ANOVA ($\alpha=0,05$)

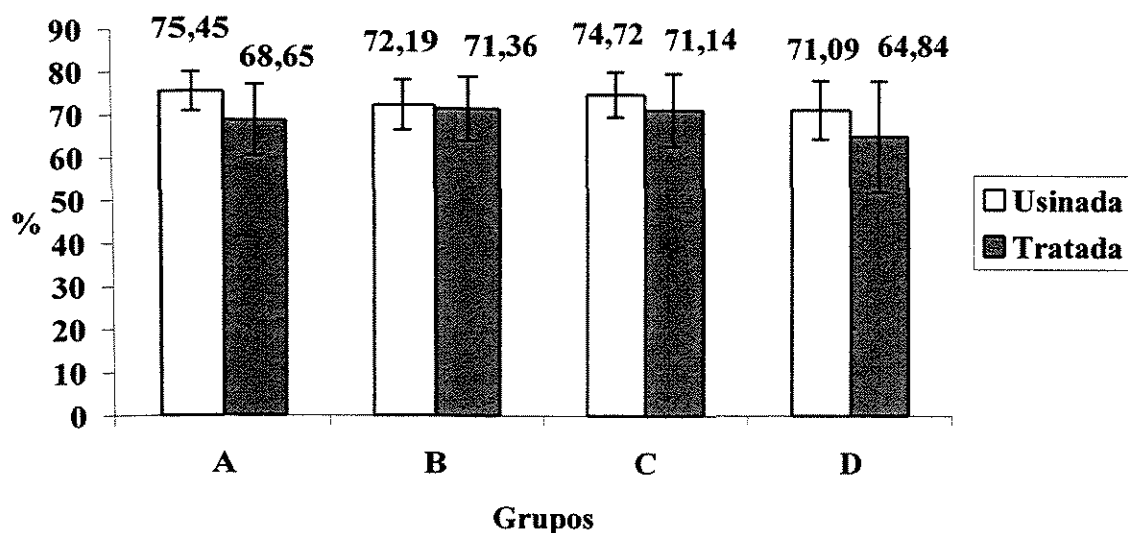


Gráfico 1

Médias e desvios padrão da área relativa de tecido ósseo por rosca do implante para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D.

4.2-Extensão relativa do tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante (figuras 3 a 10)

As médias e desvios padrão da extensão relativa do tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D estão expressos na tabela 2, e representados no gráfico 2.

Houve diferença estatística significativa entre as diferentes superfícies ($p=0,015$) para os grupos C e D, mas não para os grupos A e B (teste Tukey), nem entre os diferentes tratamentos testados, quando comparadas ao grupo controle ($p=0,232$, ANOVA).

Tabela 2

Médias e desvios padrão, em porcentagem, da extensão relativa de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D.

Grupo	Superfície Usinada	Superfície Tratada
A	34,98 ± 7,52 aA	32,99 ± 10,3 aA
B	33,58 ± 6,4 aA	37,28 ± 10,5 aA
C	30,13 ± 4,97 aA	37,85 ± 8,85 bA
D	27,79 ± 3,93 aA	33,13 ± 8,87 bA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo ANOVA ($\alpha=0,05$)

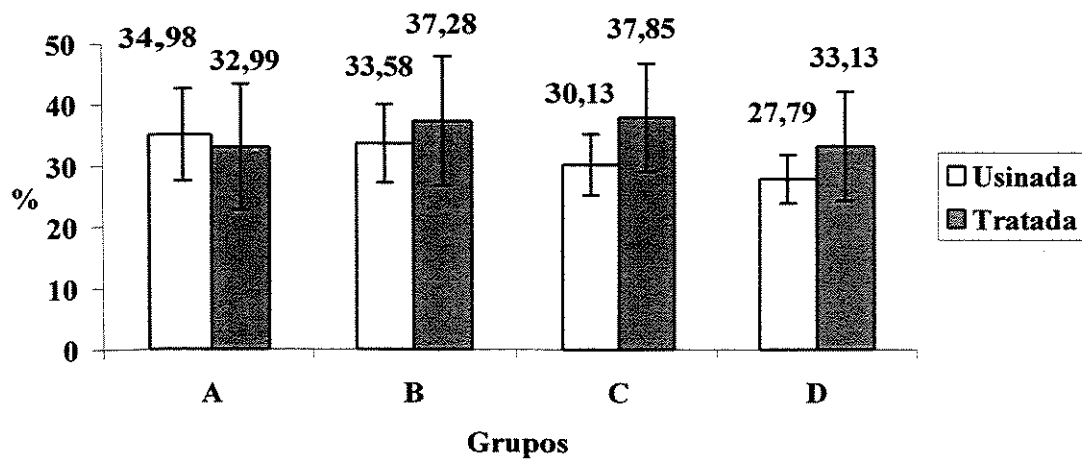
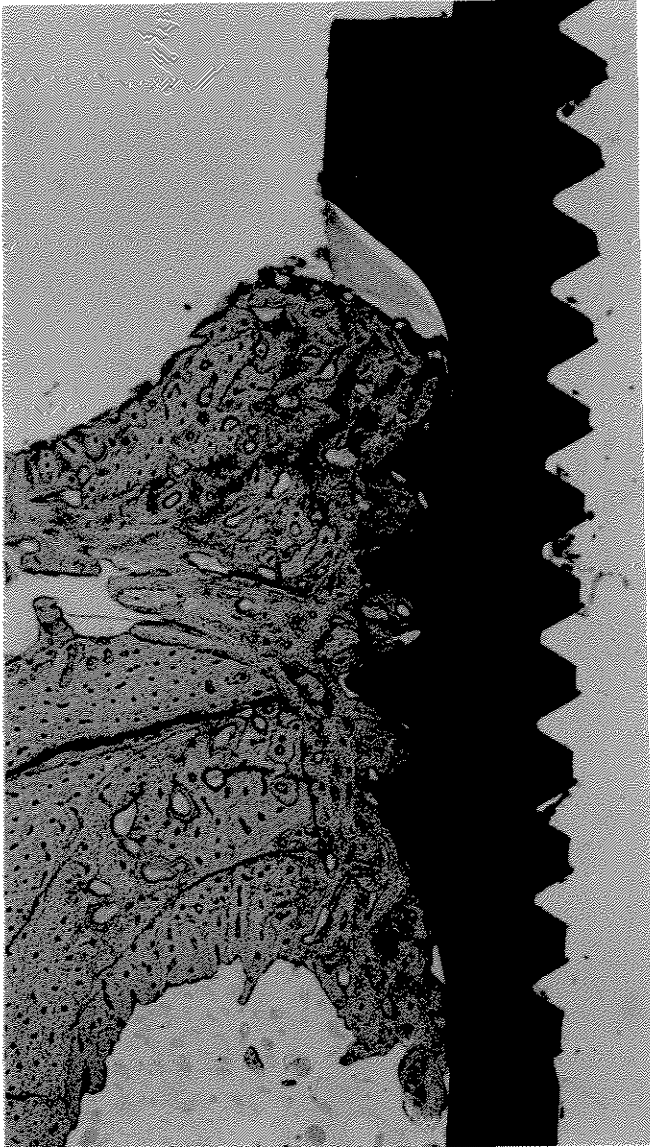


Gráfico 2

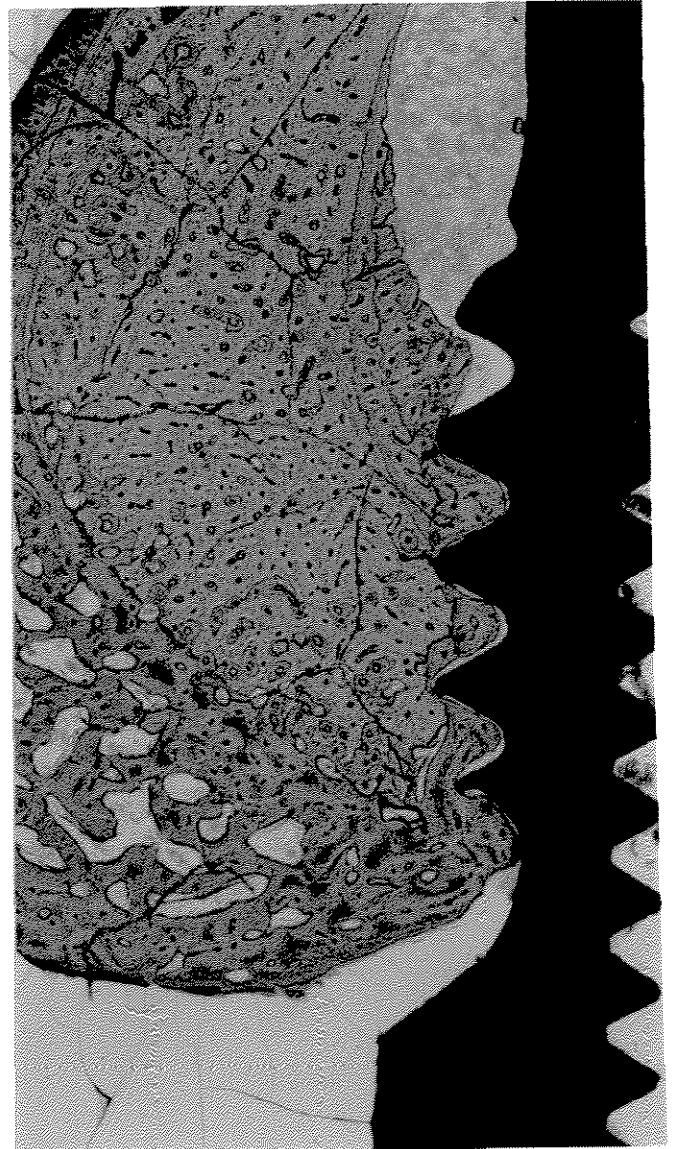
Médias e desvios padrão da extensão relativa de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D.

Grupo A (Controle)

Superfície Usinada



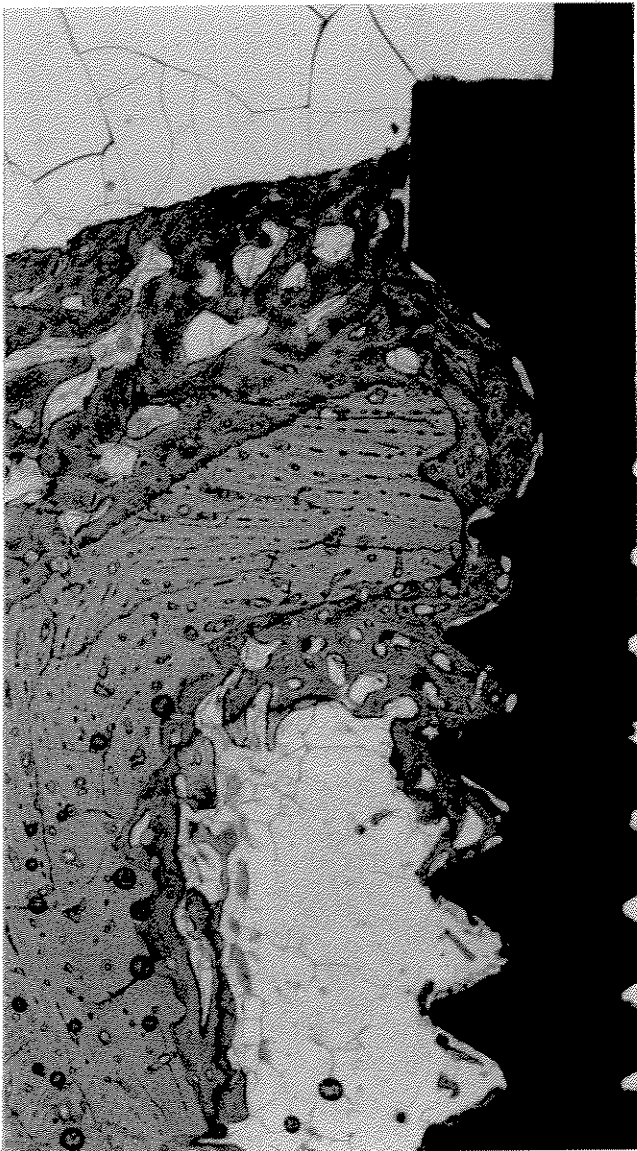
Superfície Tratada



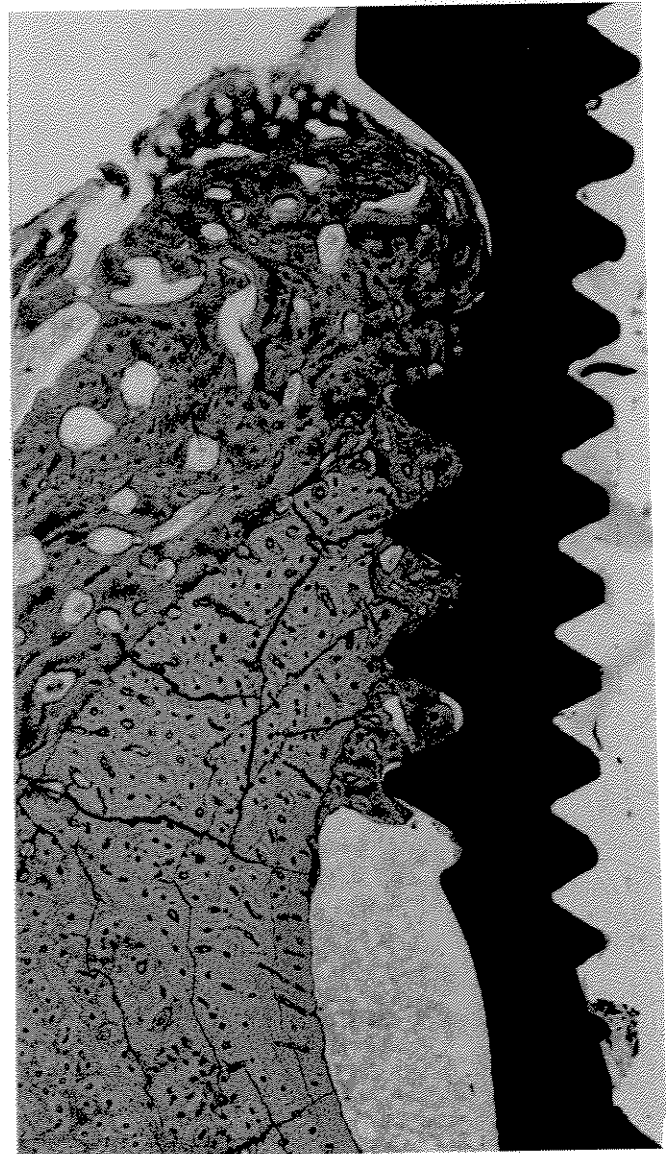
Figuras 3 e 4- Fotomicrografias dos terços superior e médio de implantes com superfície usinada e tratada do Grupo A (controle), ilustrando a adaptação do tecido ósseo às roscas do implante (azul de toluidina, aumento 25X).

Grupo B (Nicotina 0,18 mg/Kg/dia)

Superfície Usinada



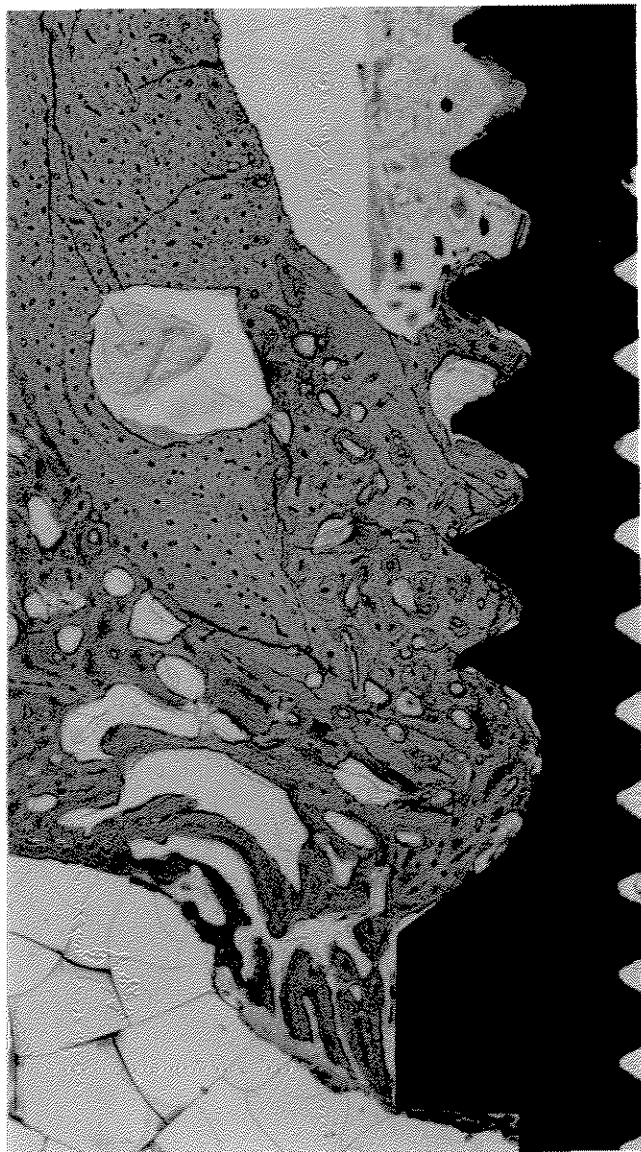
Superfície Tratada



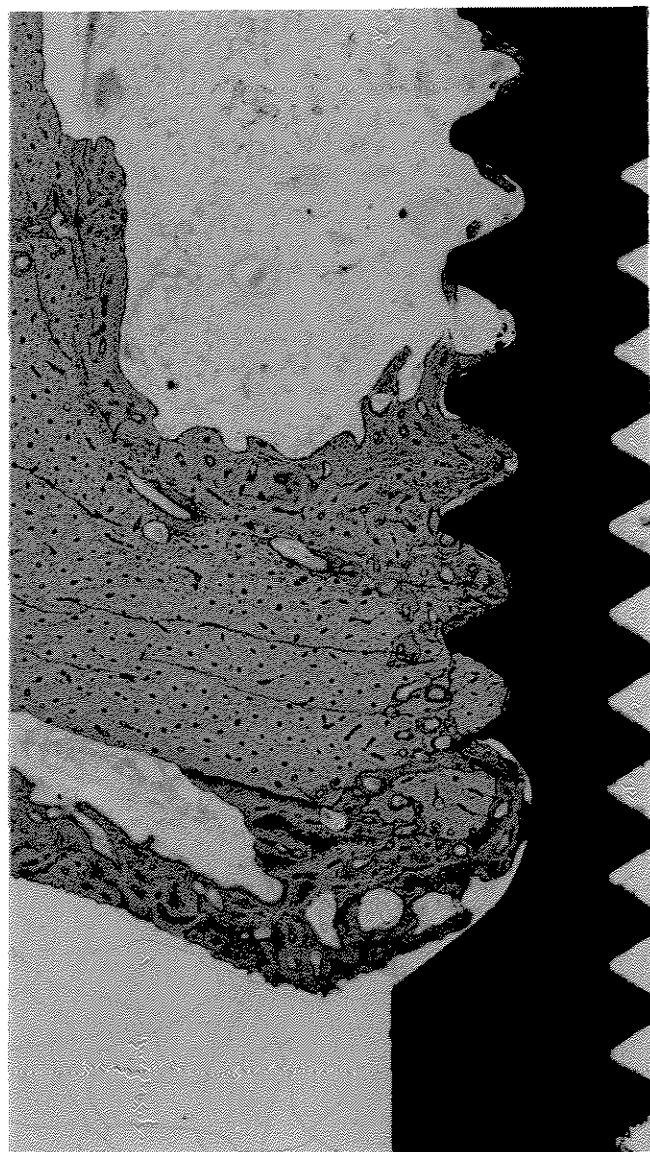
Figuras 5 e 6- Fotomicrografias dos terços superior e médio de implantes com superfície usinada e tratada do Grupo B (Nicotina 0,18 mg/Kg/dia), ilustrando a adaptação do tecido ósseo às roscas do implante (azul de toluidina, aumento 25X).

Grupo D (Nicotina 0,93 mg/Kg/dia)

Superfície Usinada



Superfície Tratada



Figuras 9 e 10- Fotomicrografias dos terços superior e médio de implantes com superfície usinada e tratada do Grupo D (Nicotina 0,93 mg/Kg/dia), ilustrando a adaptação do tecido ósseo às roscas do implante (azul de toluidina, aumento 25X).

4.3-Intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado (figuras 11 a 14)

As médias em valores da escala de cinza, onde 0 corresponde ao preto e 255 ao branco, e desvios padrão de intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado por rosca do implante para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D estão expressos na tabela 3, e representados no gráfico 3.

Não houve diferença estatística entre os diferentes tratamentos testados, quando comparados ao controle ($p=0,687$ para usinados, $p=0,518$ para tratados, ANOVA).

Tabela 3

Médias, em valores da escala de cinzas, e desvios padrão da intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D.

Grupo	Superfície Usinada	Superfície Tratada
A	129,05 \pm 29,53 aA	117,09 \pm 35,32 aA
B	116,69 \pm 35,39 aA	118,26 \pm 30,9 aA
C	122,58 \pm 39,11 aA	112,2 \pm 39,32 aA
D	107,9 \pm 39,25 aA	95,64 \pm 27,14 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas não diferem estatisticamente pelo ANOVA ($\alpha=0,05$)

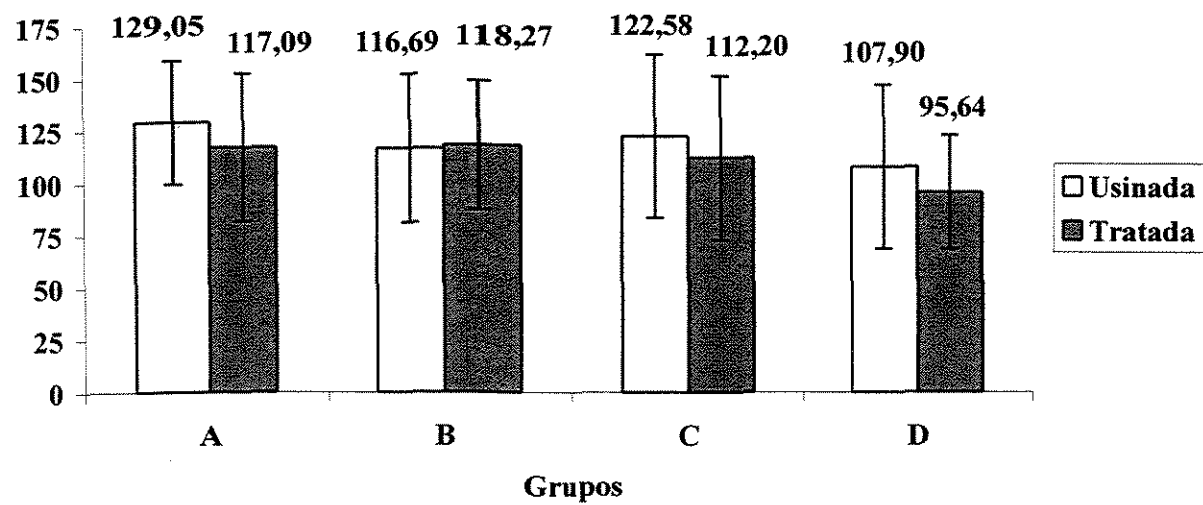
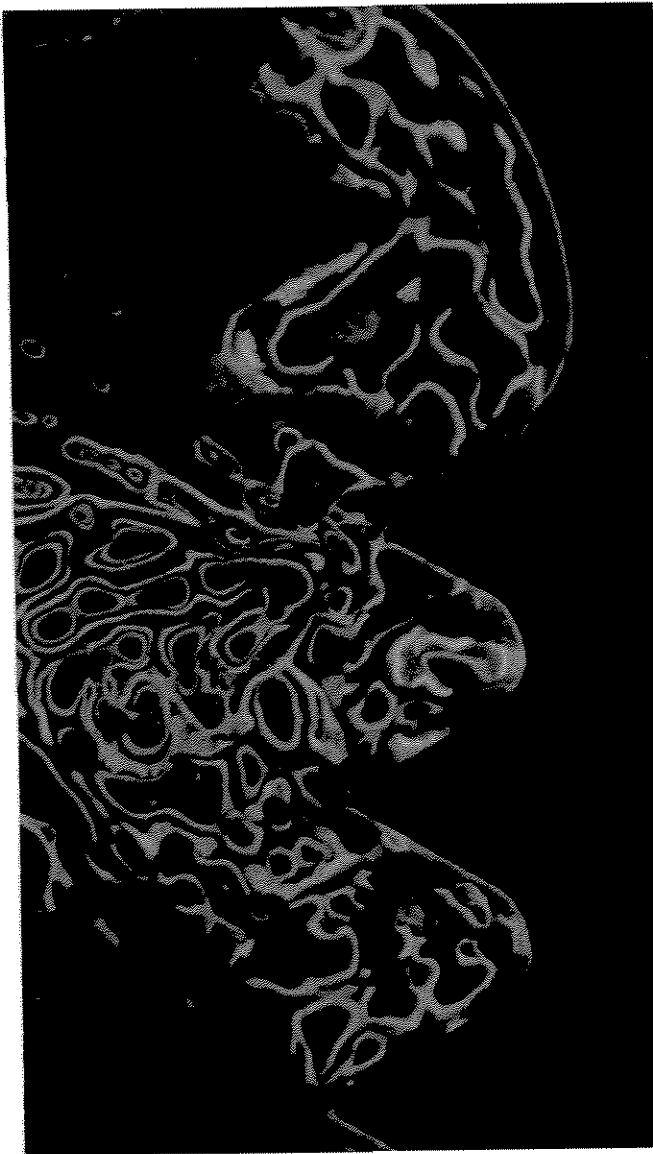


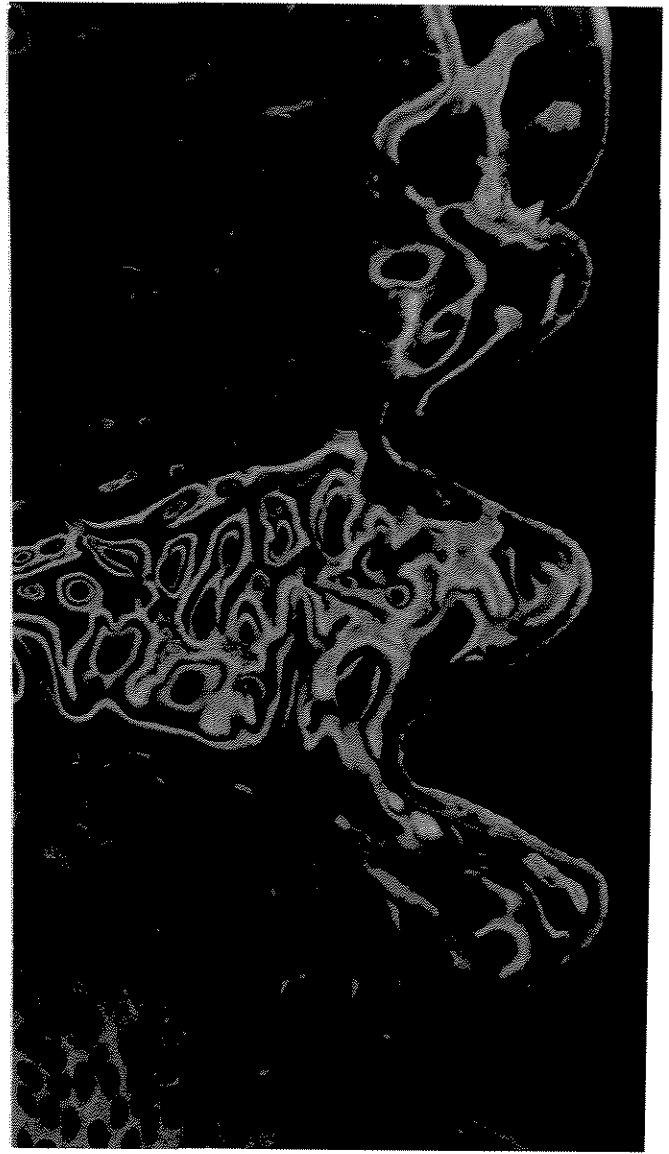
Gráfico 3

Médias (em valores da escala de cinza) da intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado para os implantes com superfície usinada e tratada dos grupos A, B, C e D.

Grupo A (Controle)

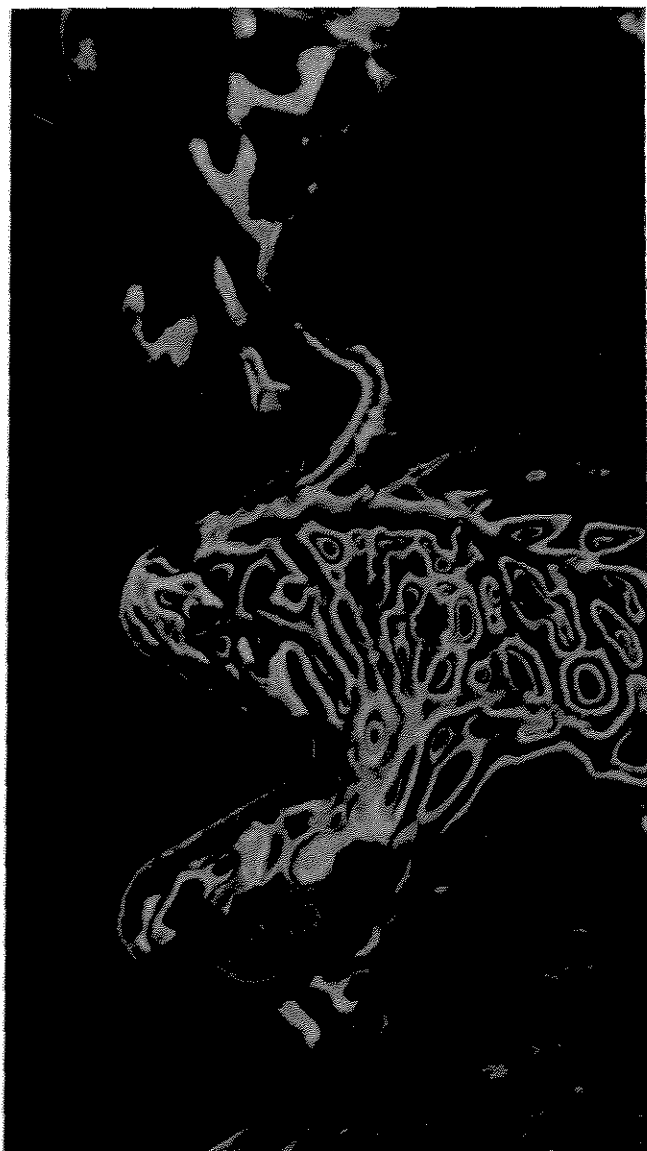


Grupo B (Nicotina 0,18 mg/Kg/dia)

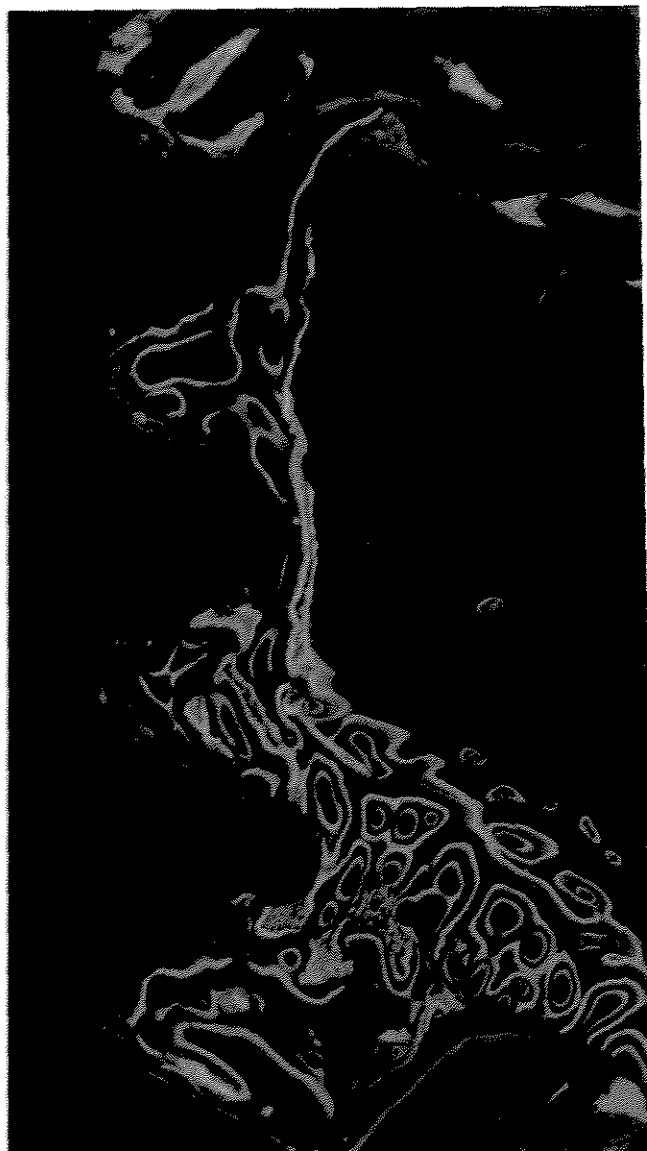


Figuras 11 e 12- Fotomicrografias de fluorescência das roscas de implantes dos grupos A e B, ilustrando a marcação pela calceína no tecido ósseo neoformado (aumento 65X).

Grupo C (Nicotina 0,56 mg/Kg/dia)



Grupo D (Nicotina 0,93 mg/Kg/dia)



Figuras 13 e 14- Fotomicrografias de fluorescência das roscas de implantes dos grupos C e D, ilustrando a marcação pela calceína no tecido ósseo neoformado (aumento 65X).

5. DISCUSSÃO

Este estudo foi realizado com o propósito de avaliar os efeitos da administração diária de nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio colocados em tíbias de coelhos, e investigar se as características superficiais dos implantes poderiam influenciar quantitativamente o reparo ósseo ao redor dos implantes após a administração de nicotina. Para tanto, três parâmetros foram avaliados: a área relativa de tecido ósseo por rosca do implante, a extensão relativa do tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante e a intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado. Este foi o primeiro estudo, dentro do conhecimento dos autores, a testar os efeitos da nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio. Até o momento, apenas estudos epidemiológicos e clínicos do efeito do consumo de cigarros sobre as taxas de sucesso relatadas para os implantes osseointegráveis foram publicados (JONES & TRIPLETT, 1992; BAIN & MOY, 1993, 1997; De BRUYN & COLLAERT, 1994; FARTASH *et al.*, 1996; HAAS *et al.*, 1996; BAIN, 1996; JONES *et al.*, 1997, 1999; KAN *et al.*, 1999).

Dentro das condições experimentais empregadas, não houve diferenças estatísticas entre as diferentes concentrações de nicotina, quando comparadas ao controle, para os parâmetros avaliados. Tendência numérica de redução da extensão do tecido ósseo em contato direto com a superfície dos implantes usinados que receberam aplicação de nicotina (tabela e gráfico 2) foi observada, contudo não houve diferença estatística entre os grupos que receberam concentrações crescentes de nicotina quando comparados ao controle ($p=0,232$). Quando comparados, os implantes com superfície tratada apresentaram maior extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante ($p=0,015$) que os implantes com

superfície usinada, porém apenas para os grupos C e D, submetidos à aplicação de concentrações mais altas de nicotina (0,56 e 0,93 mg/Kg/dia, respectivamente).

A marcação do tecido ósseo neoformado com substâncias fluorescentes tem por objetivo determinar a atividade da formação óssea nos períodos da aplicação. Como a administração de nicotina em animais foi relacionada à redução da formação óssea (BOYNE & HERFORD, 1995; RAIKIN *et al.*, 1998; FUNG *et al.*, 1999), e considerando seus efeitos sobre células responsáveis pelo reparo tecidual (RAULIN *et al.*, 1988; HANES *et al.*, 1991; FANG *et al.*, 1991; TRIPTON & DABBOUS, 1995; ALPAR *et al.*, 1998; GIANNOPOULOU *et al.*, 1999; JAMES *et al.*, 1999; YUHARA, *et al.*, 1999) poderia-se esperar que a nicotina, aplicada em animais durante o período de reparo dos implantes de titânio dificultasse o processo de alguma maneira, o que talvez pudesse ser observado através da marcação do tecido ósseo (IYAMA *et al.*, 1997). Tal achado não foi observado (tabela e gráfico 3), apesar da tendência numérica de redução da intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado com as concentrações crescentes de nicotina, não houve diferença estatística entre os grupos experimentais.

São encontrados na literatura estudos que não relataram influência negativa da nicotina sobre funções celulares envolvidas com o reparo ósseo. PEACKOK *et al.* (1993) observaram estímulo da proliferação e adesão dos fibroblastos após administração de baixas concentrações de nicotina. YUHARA *et al.* (1999) relataram aumento da deposição de íons cálcio e da produção da fosfatase alcalina em células osteogênicas e decréscimo da atividade dos osteoclastos pela nicotina. BERNZWEIG *et al.* (1998) relacionaram a aplicação de nicotina com redução da produção de mediadores inflamatórios relacionados com a ativação de osteoclastos. Os autores que relataram alterações celulares morfológicas e funcionais

relacionaram estes achados com concentrações de nicotina mais altas do que as encontradas no plasma de pacientes fumantes (TRIPTON & DABBOUS, 1995; JAMES *et al.*, 1999).

Também devem ser consideradas a importância das células de defesa e a presença de processos inflamatórios na ação da nicotina sobre a reabsorção óssea. NOCITI Jr. *et al.* (2000) observaram o efeito da nicotina sobre o desenvolvimento de periodontite em dentes de ratos com ligadura de algodão, ou seja, os efeitos da nicotina sobre a reabsorção óssea alveolar estavam potencializados pelos produtos da placa dental bacteriana. Já a nicotina, por si só, não causou perda óssea alveolar, contrariando os achados de BERGSTRÖM *et al.* (1991), que encontraram perda óssea em pacientes fumantes mesmo na ausência de inflamação causada por placa. PAYNE *et al.* (1996), bem como BERNZWEIG *et al.* (1998), observaram que a nicotina associada aos lipopolissacarídeos das bactérias gram-negativas aumentou a produção de mediadores inflamatórios da reabsorção óssea (PGE_2 e $\text{IL-1}\beta$) pelos neutrófilos e monócitos humanos *in vitro*, enquanto que sozinha praticamente não provocou alteração.

Há cerca de 2000 substâncias potencialmente tóxicas na fumaça do cigarro (REYNOLDS, 1996), a nicotina é apenas uma dentre estas, e pode não ser a única responsável pelos prejuízos causados pelo consumo de cigarros ao reparo ósseo ao redor dos implantes dentais. PEACOCK *et al.* (1993) sugeriram que talvez a nicotina não seja a única substância envolvida em várias respostas teciduais negativas ao tabaco, e outros agentes presentes na fumaça do cigarro podem ser responsáveis pelos efeitos deletérios, como a acroleína e o acetaldeído, dois componentes voláteis da fumaça do cigarro, que significativamente afetaram a proliferação, adesão e morfologia dos fibroblastos gengivais, de maneira dose dependente (CATTANEO *et al.*, 2000).

Recentemente a nicotina foi sugerida como agente terapêutico, tendo alcançado relativo sucesso no tratamento de doenças como a colite ulcerativa, em função de sua ação antiinflamatória (PULLAN *et al.*, 1994, GUSLANDI, 1999) e males de Parkinson e de Alzheimer, melhorando funções cognitivas e motoras (KELTON *et al.*, 2000), com poucos efeitos colaterais.

Apesar de no presente estudo a nicotina não ter produzido efeito significativo sobre o reparo ósseo, os resultados aqui descritos devem ser analisados com cautela. Embora estabelecido (SENNERBY *et al.*, 1992), o modelo de colocação de implantes em tíbias de coelhos não simula as condições bucais do paciente fumante. Níveis plasmáticos de nicotina atingidos após o consumo de cigarros são mais baixos dos que os níveis encontrados na saliva e fluido crevicular dos pacientes fumantes, sendo que no momento em que a fumaça é tragada, estes níveis na cavidade bucal são ainda mais altos, ficando em contato direto com estruturas e células da cavidade bucal (McGUIRE, *et al.*, 1989; PEACOCK *et al.*, 1993; PAYNE, *et al.*, 1996).

Diversos estudos *in vitro* utilizaram concentrações de nicotina superiores às descritas para o plasma e saliva de fumantes (McGUIRE, *et al.*, 1989; PEACOCK *et al.*, 1993; PAYNE, *et al.*, 1996; GONZALEZ *et al.*, 1996; TRIPTON & DABBOUS, 1995; JAMES *et al.*, 1999). Assim, as concentrações utilizadas no presente estudo são semelhantes às descritas para estudos *in vitro*, mas pequenas quando comparadas a outros estudos em animais. FUNG *et al.* (1999), avaliando os efeitos da nicotina sobre o tecido ósseo em ratos, aplicaram doses diárias entre 3 e 4,5 mg/kg, ou cinco vezes as doses utilizadas no presente estudo.

Além disso, em estudos em animais, RIEBEL *et al.* (1995) e FUNG *et al.* (1999) utilizaram mini bombas osmóticas subcutâneas, enquanto HOLLINGER *et al.* (1999) administraram a nicotina na água de consumo, para promover uma administração lenta da

nicotina (crônica), mantendo níveis plasmáticos constantes. Já no presente estudo, as aplicações de nicotina foram realizadas em um único momento do dia, de maneira aguda, através de injeções subcutâneas. Outros delineamentos podem ser considerados para pesquisas futuras, como o utilizado por UENG *et al.* (1997), que avaliaram os efeitos da inalação da própria fumaça do cigarro sobre a reparação óssea em coelhos, talvez fornecendo resultados mais próximos aos efeitos do consumo de cigarros observados em seres humanos.

A superioridade da qualidade da osseointegração, histológica e clínica, dos implantes com a superfície tratada sobre os implantes com superfície lisa está bem estabelecida na literatura (BUSER *et al.*, 1991; COCHRAN *et al.*, 1998; COCHRAN, 1999; LAZZARA *et al.*, 1999). Especialmente em situações de má qualidade óssea do leito receptor, como a região posterior da maxila, que freqüentemente apresenta osso tipo III ou IV, estando mais sujeita às falhas dos implantes dentais (JAFFIN & BERMAN, 1991), os implantes com superfície tratada demonstraram melhor desempenho que os usinados (COCHRAN, 1999), em função do efeito osseocondutor positivo de sua superfície, que favorece o processo de osseointegração, ao mesmo tempo em que oferece maior área de superfície de contato para o tecido ósseo (BOWERS *et al.*, 1992; LAZZARA *et al.*, 1999). Como o consumo de cigarros de tabaco predispõe ao desenvolvimento de osso tipo IV (BAIN & MOY, 1997), pacientes fumantes podem ser candidatos à utilização de implantes com superfície tratada.

No presente estudo, enquanto para implantes usinados conforme aumentava a concentração de nicotina diminuía a extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante (não estatisticamente significativa), para os implantes com superfície tratada tal tendência não foi observada, com valores semelhantes de extensão para os grupos que receberam concentrações crescentes de nicotina (B, C e D) e para grupo controle (A). Para o grupo controle (A), a extensão relativa de tecido ósseo em contato com a superfície do

implante foi ligeiramente maior para os implantes usinados do que para os tratados (não estatisticamente significativa). A partir do grupo B, a tendência oposta foi observada, sendo a diferença observada estatisticamente significativa para os grupos C e D. Aparentemente, implantes com a superfície tratada não sofreram a influência da nicotina para o parâmetro extensão de tecido ósseo em contato com a superfície do implante.

Já para a área de tecido ósseo por rosca do implante, observou-se menor porcentagem para implantes com superfície tratada do que usinada (não significativa). Estes resultados estão de acordo com WENNERBERG *et al.* (1995), que observaram maior porcentagem de tecido ósseo em contato com o implante em implantes com superfície jateada por óxido de alumínio e maior área de tecido ósseo por rosca em implantes usinados, fenômeno possivelmente explicado pela maneira como as células migram sobre superfícies rugosas, reconhecidamente osseocondutoras, responsável pela imagem histológica de tecido ósseo “fluindo” sobre a superfície do implante, sem que as roscas sejam completamente preenchidas por tecido ósseo (LAZZARA *et al.*, 1999). A afinidade demonstrada pelos osteoblastos por superfícies rugosas é denominada “rugofilia” (BOWERS *et al.*, 1992).

A rugosidade superficial dos implantes no presente estudo, obtida com jateamento de partículas grandes (60 a 100 μm) de óxido de alumínio, que provoca poros irregulares, demonstrou *in vitro* a maior porcentagem de adesão de osteoblastos, quando comparada a superfícies polidas, desgastadas com lixa ou condicionadas com ácido (BOWERS *et al.*, 1992). Segundo os autores, este tipo de tratamento superficial, além de aumentar a área da superfície do implante, favorece não apenas a adesão celular, mas de proteínas da matriz extracelular necessárias para a adesão celular, atuando de maneira osseocondutora. Em estudos em animais, implantes jateados com partículas grandes de óxido de alumínio e condicionados

com ácido demonstraram maior contato tecido ósseo/implante do que outros tratamentos de superfície, inclusive o recobrimento com plasma-spray de titânio (BUSER *et al.*, 1991; COCHRAN *et al.*, 1998), mesmo após a colocação de carga protética em períodos longos de observação (COCHRAN *et al.*, 1998). Promoveu também maior resistência à remoção por torque do que implantes recobertos por plasma spray de titânio (BUSER *et al.*, 1999). No presente estudo, os valores obtidos para a extensão do tecido ósseo em contato direto com a superfície dos implantes tratados foram semelhantes aos descritos por BUSER *et al.* (1991), em torno de 30 a 40%.

CONCLUSÃO

Dentro das condições experimentais empregadas, foi possível concluir que:

- 1) A nicotina não influenciou o reparo ósseo ao redor dos implantes de titânio para os parâmetros avaliados.
- 2) Implantes com superfície tratada apresentaram maior extensão de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante quando comparados aos implantes com superfície usinada nos grupos que receberam doses mais altas de nicotina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

Adell R, Lekholm B, Rockler B, et al. A 15 year study of osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. *Int J Oral Surg* 1981;10:387-416.

Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, et al. Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *J Periodontol* 2000;71:1874-1881.

Alpar B, Leyhausen G, Sapotnick A, et al. Nicotine-induced alterations in human primary periodontal ligament and gingiva fibroblast cultures. *Clin Oral Investig* 1998;2:40-46.

Bain CA. Smoking and implant failure: benefits of a smoking cessation protocol. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11:756-759.

Bain CA, Moy PK. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:609-615.

Bain CA, Moy PK. The relationship between smoking and bone quality in implant patients. *Clin Oral Impl Res* 1997;8:435.(Abstract)

Bergström J, Eliasson S, Preber H. Cigarette smoking and periodontal bone loss. *J Periodontol* 1991;62:242-246.

Bernzweig E, Payne JB, Reinhardt RA, et al. Nicotine and smokeless tobacco effects on gingival and peripheral blood mononuclear cells. *J Clin Periodontol* 1998;25:246-252.

Boström L, Linder LE, Bergström J. Clinical expression of TNF- α in smoking associated periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1998;25:767-773.

* Segundo as normas para publicação no Journal of Periodontology.

Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF- α in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1999;26:352-357.

Boström L, Linder LE, Bergström J. Smoking and GCF levels of IL-1 β and IL-1ra in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2000;27:250-255.

Boutros SM, Michalowicz BS, Smith QT, et al. Crevicular fluid enzymes from endosseous dental implants and natural teeth. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11:322-330.

Bowers KT, Keller JC, Randolph BA, et al. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:302-310.

Boyne PJ, Herford AS. Effect of tobacco smoke and transdermal nicotine on bone formation. In: 6th Abstract Book: International Congress of Preprosthetic Surgery, Palm Springs, California, 1995. Abstract n.1:1995.

Branemark PI, Breine U, Adell R, et al. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I-experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1969;3:81-100.

Branemark PI, Hansson BO, Adell R, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1977;11(Suppl.16):1-132.

Buser D, Nydegger T, Oxland T, et al. Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 1999;45:75-83.

Buser D, Schenk RK, Steinemann S, et al. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 1991;25:889-902.

Carlsson L, Röstlund T, Albrektsson B, et al. Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1988;3:21-24.

Cattaneo V, Cetta G, Rota C, et al. Volatile components of cigarette smoke: effect of acrolein and acetaldehyde on human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 2000;71:425-432.

Clarke NG, Shephard BC, Hirsch RS. The effects of intra-arterial epinephrine and nicotine on gingival circulation. *Oral Surg* 1981;52:577-582.

Cochran DL. A comparison of endosseous dental implants surfaces. *J Periodontol* 1999;70:1523-1539.

Cochran DL, Schenk RK, Lussi A, et al. Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible. *J Biomed Mater Res* 1998;40:1-11.

De Bruyn H, Collaert B. The effect of smoking on early implant failure. *Clin Oral Implants Res* 1994;5:260-264.

Donath K, Breuner GA. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissue. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.

Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, et al. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II) Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci* 1998;106:721-764.

Fang MA, Frost PJ, Iida-Klein A, et al. Effects of nicotine on cellular function in UMR 106-01 osteoblast-like cells. *Bone* 1991;12:283-286.

Fartash B, Tangerud T, Silness J, et al. Rehabilitation of mandibular edentulism by single crystal sapphire implants and overdentures: 3-12 year results in 86 patients. A dual center international study. *Clin Oral Implants Res* 1996;7:220-229.

Fredriksson MI, Figueredo CMS, Gustafsson A, et al. Effect of periodontitis and smoking on blood leukocytes and acute-phase proteins. *J Periodontol* 1999;70:1355-1360.

Fung YK, Iwaniec U, Cullen DM, et al. Long term effects of nicotine on bone and calciotropic hormones in adult female rats. *Pharmacol Toxicol* 1999;85:181-187.

Gennaro AR. *Remington farmacia*, 19 ed., Buenos Aires, Editorial Medica Panamericana, 1998. 3020p.

Giannopoulou C, Geinoz A, Cimasoni G. Effects of nicotine on periodontal ligament fibroblasts in vitro. *J Clin Periodontol* 1999;26:49-55.

Gonzalez YM, De Nardin A, Grossi SG, et al. Serum cotinine levels, smoking and periodontal attachment loss. *J Dent Res* 1996;75:796-802.

Gorman LM, Lambert PM, Morris HF, et al. The effect of smoking on implant survival at second-stage surgery: DICRG Interim Report n. 5. Dental implant clinical research group. *Implant Dent* 1994;3:165-168.

Guslandi M. Long-term effects of a single course of nicotine treatment in acute ulcerative colitis: remission maintenance in a 12-month follow-up study. *Int J Colorectal Dis* 1999;14:261-262.

Haas R, Haimböck W, Mailath G, et al. The relationship of smoking on peri-implant tissue: a retrospective study. *J Prosthet Dent* 1996;76:592-596.

Haider R, Watzek G, Plenck H. Effects of drill cooling and bone structure on IMZ implant fixation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993;8:83-91.

Hanes PJ, Schuster GS, Lubas S. Binding, uptake and release of nicotine by human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1991;62: 147-152.

Hanioka T, Tanaka M, Ojima O, et al. Oxygen sufficiency in the gingiva of smokers and non-smokers with periodontal disease. *J Periodontol* 2000;71:1846-1851.b

Hanioka T, Tanaka M, Takaya K, et al. Pocket oxygen tension in smokers and non-smokers with periodontal disease. *J Periodontol* 2000;71:550-554.a

Hollinger JO, Schmitt JM, Hwang K, et al. Impact of nicotine on bone healing. *J Biomed Mater Res* 1999;45:294-301.

Holm G. Smoking as additional risk for tooth loss. *J Periodontol* 1994;65:996-1001.

Iyama S, Takeshita F, Ayukawa Y, et al. A study of the regional distribution of bone formed around hydroxyapatite implants in the tibiae of streptozocin-induced diabetic rats using multiple fluorescent labeling and confocal laser scanning microscopy. *J Periodontol* 1997;68:1169-1175.

Jaffin RA, Berman CL. The excessive loss of fixtures in type IV bone: a five year analysis. *J Periodontol* 1991;62:2-4.

James LA, Sayers NM, Drucker DB, et al. Effects of tobacco products on the attachment and growth of periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol* 1999;70:518-525.

Johnson GK. Tobacco use and the periodontal patient. *J Periodontol* 1999;70:1419-1427.

Jones JD, Lupori j, Van Sickels JE, et al. A 5-year comparison of hydroxyapatite-coated titanium plasma-sprayed and titanium plasma-sprayed cylinder dental implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;87:649-652.

Jones JD, Saigusa M, Van Sickels JE, et al. Clinical evaluation of hydroxyapatite-coated titanium plasma-sprayed cylinder dental implants. A preliminary report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997;84:137-141.

Jones JK, Triplett RG. The relationship of cigarette smoking to impaired intraoral wound healing: a review of evidence and implications for patient care. *J Oral Maxillofac Surg* 1992;50:237-240.

Kan JY, Rungcharassaeng K, Lozada JL, et al. Effects of smoking on implant success in grafted maxillary sinuses. *J Prosthet Dent* 1999;82:307-311.

Kelton MC, Kahn HJ, Conrath CL, et al. The effects of nicotine on parkinson's disease. *Brain Cogn* 2000;43:274-282.

Lazzara RJ, Testori T, Trisi P, et al. A human histologic analysis of osseotite and machined surfaces using implants with two opposing surfaces. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:117-129.

Lekholm U, Zarb GA. Patient selection and preparation. In: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. *Tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry*, ed. Quintessence, Chicago, p.199-209, 1985.

Lemons JE, Laskin DM, Roberts WE, et al. Changes in patient screening for a clinical study of dental implants after increased awareness of tobacco use as risk factor. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55(Suppl.5):72-75.

Liede KE, Haukka JH, Hietanen JHP, et al. The association between smoking cessation and periodontal status and salivary proteinase levels. *J Periodontol* 1999;70:1361-1368.

Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. Clinical results and marginal bone loss. *Clin Oral Implants Res* 1996;7:329-336.

Lindquist LW, Carlsson GE, Jemt T. Association between marginal bone loss around osseointegrated mandibular implants and smoking habits: a 10-year follow up study. *J Dent Res* 1997;76:1667-1674.

Matsuo M, Nakamura T, Kishi Y, et al. Microvascular changes after placement of titanium implants: scanning electron microscopy observations of machined and titanium plasma-sprayed implants in dogs. *J Periodontol* 1999;70:1330-1338.

Mcguire JR, McQuade MJ, Rossmann JA, et al. Cotinine in saliva and gingival crevicular fluid of smokers with periodontal disease. *J Periodontol* 1989;60:176-181.

Meechan JG. The effect of smoking on immediate post-extraction socket filling with blood and on the incidence of painful socket. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1988;26:402-409.

Minsk L, Polson AM. Dental implants outcomes in postmenopausal women undergoing hormone replacement. *Compend Contin Educ Dent* 1998;19:859-862(quiz 866).

Moore GE, Bross I, Shamberger R, et al. Tar and nicotine retrieval from fifty six brands of cigarettes. *Cancer* 1967;20:323-332.

Nociti Jr. FH, Nogueira Filho GR, Primo MT, et al. The influence of nicotine on the bone loss rate in ligature-induced periodontitis. A histometric study in rats. *J Periodontol* 2000;71:1460-1464.

Ogura N, Mera T, Sato F, et al. Longitudinal observation of cementum regeneration through multiple fluorescent labeling. *J Periodontol* 1991;62:284-291.

Oikarinen K, Raustia AM, Hartikainen M. General and local contraindications for endosseal implants – an epidemiological panoramic radiograph study in 65-year-old subjects. *Community Dent Oral Epidemiol* 1995;23:114-118.

Pabst MJ, Pabst KM, Collter JA, et al. Inhibition of neutrophil and monocyte defensive functions by nicotine. *J Periodontol* 1995;66:1047-1055.

PAHO (Pan American Health Organization) *Tobacco free youth: a “life skills” primer*. [on line] Url: <http://www.paho.org/english/dbi/sp579.htm>. 2000.

Palmer RM, Scott DA, Meekin TN, et al. Potential mechanisms of susceptibility to periodontitis in tobacco smokers. *J Periodont Res* 1999;34:363-369.

Pauletto NC, Liede K, Nieminen A, et al. Effect of cigarette smoking on oral elastase activity in adult periodontitis patients. *J Periodontol* 2000;71:58-62.

Payne JB, Johnson GK, Reinhardt RA, et al. Nicotine effects on PGE₂ and IL-1 β release by LPS-treated human monocytes. *J Periodont Res* 1996;31:99-104.

Payne JB, Reinhardt RA, Nummikoski PV, et al. The association of cigarette smoking with alveolar bone loss in postmenopausal females. *J Clin Periodontol* 2000;27:658-664.

Peacock ME, Sutherland DE, Schuster GS, et al. The effect of nicotine on reproduction and attachment of human gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1993;64:658-665.

Persson L, Bergström J, Gustafsson A, et al. Tobacco smoking and gingival neutrophil activity in young adults. *J Clin Periodontol* 1999;26:9-13.

Pullan RD, Rhodes J, Ganesh S, et al. Transdermal nicotine for active ulcerative colitis. *N Engl J Med* 1994;330:811-815.

Raikin SM, Landsman JC, Alexander VA, et al. Effect of nicotine on the rate and strength of long bone fracture healing. *Clin Orthop* 1998;353:231-237.

Raulin LA, McPherson JC, McQuade MJ, et al. The effect of nicotine on the attachment of human fibroblasts to glass and human root surfaces in vitro. *J Periodontol* 1988;59:318-322.

Reynolds EF. Supplementary drugs and other substances (nicotine). In: *Martindale the Extra Pharmacopeia*, 31 ed., Londres, Royal Pharmaceutical Society, 1996. p.1594.

Riebel GD, Boden SD, Whitesides TE, et al. The effect of nicotine incorporation of cancellous bone graft in an animal model. *Spine* 1995;20:2198-2202.

Robbers JE, Speedie MK, Tyler VE. Alcalóides de pirina-piridina. In: *Farmacognosia e Farmacobiotechnologia*, 1 ed., São Paulo, Editorial Premier, 1996. p.166,168.

Roberts WE. Bone tissue interface. *J Dent Edu* 1988;52:804-809.

Sennerby L, Thomsen P, Ericson LE. A morphometric and biomechanic comparison of titanium implants inserted in rabbit cortical and cancellous bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:62-71.

Shiloah J, Patters MR, Waring MB. The prevalence of pathogenic periodontal microflora in healthy young adult smokers. *J Periodontol* 2000;71:562-567.

Stefani CM, Machado MAN, Sallum EA, et al. Platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-1 combination and bone regeneration around implants placed into extraction sockets: a histometric study in dogs. *Implant Dent* 2000;9:126-132.

Sweet JB, Butler DP. The relationship of smoking to localized osteitis. *J Oral Surg* 1979;37:732-735.

Tanur E, McQuade MJ, McPherson JC, et al. Effects of nicotine on the strength of attachment of gingival fibroblasts to glass and non-diseased human root surfaces. *J Periodontol* 2000;71:717-722.

Trikilis N, Rawlinson A, Walsh TF. Periodontal probing depth and subgingival temperature in smokers and non-smokers. *J Clin Periodontol* 1999;26:38-43.

Tripton DA, Dabbous MK. Effects of nicotine on proliferation and extracellular matrix production of human gingival fibroblasts in vitro. *J Periodontol* 1995;66:1056-1064.

Ueng SW, Lee MY, Li AF, et al. Effect of intermittent cigarette smoke inhalation on tibial lengthening: experimental study in rabbits. *J Trauma* 1997;42:231-238.

Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B, et al. A histomorphometric and removal torque study of screw shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 1995;6:24-30.

Weyant RJ. Characteristics associated with the loss and peri-implant tissue health of endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1994;9:95-102.

Yuhara S, Kasagi S, Inoue A, et al. Effects of nicotine on cultured cells suggest that it can influence the formation and resorption of bone. *Eur J Pharmacol* 1999;383:387-393.

Zarb GA, Schmitt A. The longitudinal clinical effectiveness of osseointegrated dental implants: the Toronto study. Part I: surgical results. *J Prosthet Dent* 1990;63:451-457.

APÊNDICE

Área relativa de tecido ósseo por rosca do implante

Grupo A

Superfície Usinada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,8568	0,8385	0,8482	0,7682	0,6832	0,6051	0,7962	0,6861
B	0,7577	0,6989	0,6707	0,8434	0,7413	0,7337	0,7384	0,8055
Média	80,73	76,87	75,95	80,58	71,22	66,94	76,73	74,58
	Média		75,45	Desvio Padrão			4,61	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A		0,8022	0,8038	0,8453	0,6557	0,5507		0,7569
B	0,5411	0,5443	0,6887	0,7308	0,8010	0,6932		0,6564
Média	54,11	67,33	74,62	78,80	72,83	62,20		70,66
	Média		68,65	Desvio Padrão			8,32	

Grupo B

Superfície Usinada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,7081	0,6304	0,8122	0,7754	0,6320	0,8322	0,6685	0,6946
B	0,8276	0,7786	0,6187	0,6821	0,6966	0,8017	0,5936	0,7993
Média	76,78	70,45	71,54	72,87	66,43	81,69	63,10	74,70
	Média		72,20	Desvio Padrão			5,82	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,7333	0,7593	0,5981	0,8128	0,4919	0,8000	0,5398	0,8234
B	0,7352	0,6653	0,7934	0,7649	0,7106	0,8550	0,7142	0,6199
Média	73,43	71,23	69,58	78,89	60,12	82,75	62,70	72,16
	Média		71,36	Desvio Padrão			7,52	

Grupo C**Superfície Usinada**

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,7793	0,6766	0,7468	0,7819	0,8168	0,7513	0,7694	0,7323
B	0,8153	0,7847	0,7730	0,7240	0,7382	0,7790		0,5174
Média	79,73	73,07	75,99	75,29	77,75	76,51	76,94	62,49
	Média		74,72	Desvio Padrão			5,30	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,7845	0,6935	0,7691		0,7689	0,8108	0,7501	0,6553
B	0,7679	0,7460	0,7213	0,6179	0,5768	0,8101	0,8117	0,4799
Média	77,62	71,98	74,52	61,79	67,29	81,05	78,09	56,76
	Média		71,14	Desvio Padrão			8,53	

Grupo D**Superfície Usinada**

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,6841	0,4901	0,7263	0,7295	0,7773	0,7910	0,8769	0,7873
B	0,8017	0,6496	0,7024		0,6723	0,6326	0,7461	0,5778
Média	74,29	56,98	71,43	72,95	72,48	71,18	81,15	68,26
	Média		71,09	Desvio Padrão			6,80	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,6442	0,7005	0,7426	0,8389	0,8340	0,3456	0,6367	0,7881
B	0,5897	0,5689	0,7207	0,5587	0,5700		0,8139	0,6767
Média	61,69	63,47	73,16	69,88	70,20	34,56	72,53	73,24
	Média		64,84	Desvio Padrão			12,99	

Extensão relativa de tecido ósseo em contato direto com a superfície do implante

Grupo A

Superfície Usinada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,3398	0,3792	0,3733	0,3215	0,2143	0,3529	0,4548	0,3263
B	0,2766	0,2471	0,5998	0,3772	0,2736	0,3377	0,3990	0,3246
Média	30,82	31,32	48,65	34,93	24,39	34,53	42,69	32,54
	Média		34,98	Desvio Padrão			7,52	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A		0,4471	0,4960	0,5604	0,5342	0,2037		0,4715
B	0,1953	0,2046	0,2480	0,2902	0,3495	0,1664		0,2568
Média	19,53	32,59	37,20	42,53	44,19	18,50		36,42
	Média		32,99	Desvio Padrão			10,30	

Grupo B

Superfície Usinada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,3341	0,3653	0,2911	0,2897	0,2766	0,3142	0,2846	0,3050
B	0,4375	0,1606	0,1593	0,5291	0,3793	0,4486	0,4509	0,3471
Média	38,58	26,30	22,52	40,94	32,79	38,14	36,78	32,60
	Média		33,58	Desvio Padrão			6,40	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,2091	0,3199	0,1568	0,5864	0,2934	0,3506	0,2086	0,4473
B	0,2894	0,3223	0,4126	0,5860	0,4853	0,4844	0,4417	0,3711
Média	24,92	32,11	28,47	58,62	38,93	41,75	32,52	40,92
	Média		37,28	Desvio Padrão			10,50	

Grupo C**Superfície Usinada**

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,1962	0,2529	0,3766	0,4331	0,2897	0,3807	0,2767	0,2830
B	0,4865	0,2232	0,3285	0,2413	0,2115	0,3287		0,2357
Média	34,13	23,80	35,26	33,72	25,06	35,47	27,67	25,93
	Média		30,13	Desvio Padrão			4,97	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,4659	0,3148	0,5720	0,4482	0,3080	0,3338	0,2676	0,3776
B	0,4678	0,2276	0,4432		0,3091	0,4497	0,3154	0,3071
Média	46,69	27,12	50,76	44,82	30,85	39,18	29,15	34,24
	Média		37,85	Desvio Padrão			8,85	

Grupo D**Superfície Usinada**

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,2504	0,2956	0,3307	0,2621	0,3158	0,2129	0,4195	0,3157
B	0,3420	0,2816	0,3656		0,2314	0,2410	0,1748	0,1461
Média	29,62	28,86	34,81	26,21	27,36	22,69	29,71	23,09
	Média		27,79	Desvio Padrão			3,93	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0,2957	0,2806	0,4501	0,3306	0,6611	0,2072	0,2651	0,4096
B	0,2406	0,3270	0,4113	0,2288	0,2869		0,4838	0,2158
Média	26,81	30,38	43,07	27,97	47,40	20,72	37,45	31,27
	Média		33,13	Desvio Padrão			8,89	

Intensidade da marcação do tecido ósseo neoformado

Grupo A

Superfície Usinada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	144,5	119	150,5	159,5	126,5	160,67	61,833	176,58
B	153,08	168,5	101,67	141,25	76,167	117,83	76,833	130,33
Média	148,79	143,75	126,08	150,38	101,33	139,25	69,33	153,46
	Média		129,05	Desvio Padrão		29,53		

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A		157,67	144,33	98,667	130,08	71,333		159,67
B	59,333	154,25	119,33	135,33	79,167	114,33		156,42
Média	59,33	155,96	131,83	117	104,63	92,83		158,04
	Média		117,09	Desvio Padrão		35,32		

Grupo B

Superfície Usinada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	116	112,75	150,67	107,17	141,5	170,5	50,833	101,83
B	155,25	122,42	149,33	55,167	168,92	88,5	50,167	126,08
Média	135,63	117,58	150	81,17	155,21	129,5	50,5	113,96
	Média		116,69	Desvio Padrão		35,39		

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	104	132,17	122,75	165,33	114,83	102,33	46	98,583
B	180	84,333	124,17	82,833	175,17	171,17	50,5	138,08
Média	142	108,25	123,46	124,08	145	136,75	48,25	118,33
	Média		118,27	Desvio Padrão		30,90		

Grupo C**Superfície Usinada**

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	171,67	155,25	161,67	102	155,17	154,08	58,833	79,5
B	156,5	164,67	116	135,5	147,33	76		68,333
Média	164,08	159,96	138,83	118,75	151,25	115,04	58,83	73,92
	Média		122,58	Desvio Padrão			39,11	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	70,833	123,75	81		121,33	160	66,667	47,167
B	135	129,33	74,167	177,67	121,5	141	78,833	89,25
Média	102,92	126,54	77,58	177,67	121,42	150,5	72,75	68,21
	Média		112,20	Desvio Padrão			39,31	

Grupo D**Superfície Usinada**

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	158,83	85,25	124,67	58,333	159,75	107,33	120,83	61,333
B	134,75	112,08	67,833		172,33	92,667	153,42	58,667
Média	146,79	98,67	96,25	58,33	166,04	100	137,13	60
	Média		107,90	Desvio Padrão			39,25	

Superfície Tratada

Implante	1	2	3	4	5	6	7	8
A	82,75	89,5	74,167	140,17	108,17	51,167	132,5	74,333
B	111,75	118,33	67,833	120,25	122,5		106,25	79,333
Média	97,25	103,92	71	130,21	115,33	51,17	119,38	76,83
	Média		95,64	Desvio Padrão			27,14	



Comissão de Ética na Experimentação Animal
Instituto de Biologia
Universidade Estadual de Campinas
CEEA-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 202-2, sobre "Avaliação da influência da nicotina sobre o reparo ósseo ao redor de implantes de titânio colocados em tíbias de coelhos" sob a responsabilidade de Francisco H. Nozaki Júnior está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 15/02/2001. Este certificado expira em 15/02/2002.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 202-2, about "Effect of nicotine on bone repair around titanium dental implants study in rabbits", is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the Institute of Biology/UNICAMP Ethical Committee for Animal Research (CEEA) in 02/15/2001 m d y. Expiration date 02/15/2002.

Campinas, 15 de fevereiro de 2001.

Prof(a) Dr(a)
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP

Alba R. M. Souza Brito
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CIDADE UNIVERSITÁRIA ZEFERINO VAZ
CEP - 13.081-970 - CAMPINAS - SP - BRASIL

Prof. Dr. ARMANDO FERREIRA LIMA
Secretário(a) - CEEA/IB/UNICAMP

TELEFONE (019) 788.7116
FAX (019) 289.3124